

Titolo

**ICP-MS Triplo Quadrupolo come tecnica analitica
per la definizione dell'impronta in traccia e ultra-traccia
di olio extravergine di oliva**

Descrittori
Tipologia del documento: rapporto tecnico

Collocazione contrattuale:
Argomenti trattati: chimica

Sommario




L'olio extravergine di oliva è un prodotto tipico dell'area mediterranea e la tutela della sua origine viene continuamente monitorata. In questo lavoro di ricerca è stata messa a punto la metodologia per analizzare campioni di olio extra vergine di olive con lo spettrometro di massa triplo quadrupolo, installato presso il Laboratorio Tracciabilità (FSN-SICNUC-TNMT) del Brasimone.

Per individuare la metodologia di preparazione dei campioni ottimale, sono stati analizzati 24 campioni di olio d'oliva di diversa provenienza geografica (Rizzo et al., 2019), i cui risultati in ICP-MS-QQQ sono poi stati elaborati con tecniche chemiometriche per determinare l'affidabilità del metodo.

Note


 Autori: Chiara Telloli¹, Antonietta Rizzo¹, Stefano Salvi¹, Silvia Tagliavini², Fabrizio Passarini²
¹ENEA, FSN-SICNUC-TNMT

²Dipartimento di Chimica Industriale "Toso Montanari", Università di Bologna.

2			NOME			
			FIRMA			
1			NOME			
			FIRMA			
0	EMISSIONE	10/10/2022	NOME	C. Telloli	M. Tarantino	M. Tarantino
			FIRMA			
REV.	DESCRIZIONE	DATA		REDAZIONE	CONVALIDA	APPROVAZIONE

Sommario

Premessa	3
1. Introduzione	4
2. Materiali e metodi	6
2.2. Strumentazione	6
2.3. Trattamento dei campioni	7
2.4. Validazione dei parametri del metodo	7
2.5. Analisi Multivariata	9
3. Risultati	10
3.1. Validazione del metodo per l'analisi multielemento	10
3.2. Validazione del metodo per l'analisi delle REE	11
3.3. Caso studio: analisi multielemento e REE dei campioni di olio EVO	12
3.4. Analisi multivariata.....	18
4. Conclusioni	24
Bibliografia.....	25

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	3	39

Premessa

Il Laboratorio Tracciabilità FSN-SICNUC-TNMT fa parte della Rete Alta Tecnologia della Regione Emilia-Romagna (<https://www.retealtatecnologia.it/laboratori-centri/tracciabilita>).

All'interno di questa rete, il Laboratorio è pienamente inserito nel Clust-ER AGRIFOOD (<https://agrifood.clust-er.it/>), in cui ENEA compare come socio (<https://agrifood.clust-er.it/soci/>).

All'interno delle attività del Clust-ER, il Laboratorio è inserito in due diverse Value Chain:

- INQUAN (<https://agrifood.clust-er.it/value-chain/inquan/>) che include le tematiche relative alla relazione tra alimenti, alimentazione e salute umana, alla valutazione e miglioramento della sicurezza e qualità degli alimenti ed alla loro tracciabilità, autenticità e sostenibilità;
- PRIMPACK (<https://agrifood.clust-er.it/value-chain/primpack/>) che, invece, include le tematiche relative a tecnologie e biotecnologie in processi produttivi, l'innovazione e sostenibilità di processi, di impianti per l'industria alimentare, sistemi e impianti per il confezionamento, sistemi informativi e logistica.

Riguardo alle attività legate alla Value Chain INQUAN, il Laboratorio svolge regolarmente analisi di diversi tipi di alimenti, cercando di individuare marker identificativi del prodotto che possano legarlo all'origine (provenienza) oppure marker identificativi di adulterazione (indicanti frode) o di inquinamento antropico.

Il Laboratorio Tracciabilità, grazie allo spettrometro di massa triplo quadrupolo in camera bianca, riesce a caratterizzare marker dell'ordine di ppt (parti per trilione), come ad esempio le terre rare che possono fornire informazioni dettagliate sulla tracciabilità dell'alimento.

1. Introduzione

A seguito della rapida espansione del mercato libero alimentare (Ala-Hulkko et al., 2019), la qualità di ciò che mangiamo è diventata un vero problema, sottolineando l'importanza di identificare l'origine dei prodotti alimentari sia per i consumatori che per i produttori (Fung et al., 2018; Mancini et al., 2019; Ladwein et al., 2021).


La legislazione dell'Unione Europea (1992) ha, per questo motivo, introdotto una discriminazione basata su Indicatori Geografici (Commissione Europea, 2020) a testimonianza del legame tra il cibo e la sua origine (Regolamento del Consiglio, 1992). In aggiunta, il Regolamento UE 178/2002 ha imposto l'obbligo di tracciabilità dei prodotti agricoli (Chammen et al., 2018).

Purtroppo, non è sempre facile fare affidamento sugli stessi parametri per la determinazione dell'origine di un prodotto alimentare a causa delle variazioni dovute alla concimazione, al tipo di coltivazione, alla composizione del suolo e all'origine geografica (Drivelos et al., 2012). Al contrario, gli elementi in traccia e ultra-traccia (REE – rare earth element) potrebbero fornire un'utile impronta digitale rappresentativa della composizione del prodotto (Aceto, 2016; Aceto et al., 2018; Bandoniene et al., 2018).


Per ottenere dati affidabili, le tecnologie analitiche coinvolte sono numerose, come la spettroscopia ottica e la spettrometria di massa (Markiewicz-Keszycka et al., 2017; Prandi et al., 2017; Cortés et al., 2019) o la spettroscopia di assorbimento atomico (Stanisz and Stanisz, 2017). La spettrometria di massa al plasma accoppiato induttivo (ICP-MS) è una delle tecniche più sicure e affidabili per l'analisi simultanea di più elementi nella tracciabilità alimentare (Bronzi et al., 2020; Qin et al., 2021). Negli ultimi 20 anni sono state sviluppate diverse implementazioni, in quanto è stato introdotto un quadrupolo aggiuntivo davanti alla Collision/Reaction Cell (CRC) per fungere da ulteriore filtro di massa, ottenendo la tecnologia del triplo quadrupolo (ICP-MS-QQQ). La tecnica analitica ICP-MS-QQQ porta a un migliore controllo sulla reazione diventando un potente strumento per l'analisi quantitativa senza interferenze, specialmente per gli elementi delle terre rare (Balcaen et al., 2015; Leśniewska and Godlewska-Żyłkiewicz, 2019). Inoltre, con due quadrupoli nella strumentazione, anche il rumore di fondo è inferiore consentendo una migliore sensibilità e rilevabilità (Garcia-Bellido et al., 2020).

Per quanto riguarda la matrice selezionata, è ampiamente riconosciuto che l'olio commestibile, in particolare l'olio extra vergine di oliva prodotto dall'albero di *Olea Europaea* (Gharbi and Hammami, 2019; Nazzaro et al., 2019), è un prodotto caratteristico dell'area mediterranea e un elemento strategico per la sua elevata esportazione e consumo. Chiaramente avendo una domanda in costante crescita e un alto costo di produzione, l'olio Extra Vergine di Oliva (EVO) è molto più costoso di altri oli e per questo motivo può essere frequentemente soggetto ad alterazioni e falsificazioni.

Per questo motivo è stata scelta come matrice da analizzare l'olio EVO per identificarne la principale composizione minerale, ma anche e soprattutto per identificare eventuali markers identificativi o di origine o di frodi (Aceto et al., 2019; Luka and Akun, 2019).

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	5	39

Per fare ciò, l'utilizzo dello strumento ICP-MS-QQQ posizionato in una Camera Bianca ISO6 riduce il limite di rilevazione e il limite di quantificazione di tutti gli elementi analizzati, e in particolare delle REE che possono discriminare meglio le diverse tipologie di oli EVO (Telloli et al., 2022).

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	6	39

2. Materiali e metodi

2.1. Reagenti chimici

Le procedure di trattamento del campione sono state ottimizzate riducendo tutti i volumi di reagente per:

- prevenire la perdita del campione;
- ridurre la manipolazione del campione;
- ridurre la possibile contaminazione da materiali di consumo o dall'atmosfera (Astolfi et al., 2021).

Per la soluzione del bianco e la preparazione della miscela degli acidi di digestione, una soluzione al 69% di HNO₃, una soluzione al 37% di HCl e H₂O₂ di grado ultra-puro al 30-32% sono state acquisite da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) e Carlo Reagenti Erba (Milano, Italia) rispettivamente.

Generalmente si utilizza HNO₃ perché favorisce l'ossidazione dei composti e riduce al minimo le interferenze poliatomiche (es. Cr, Ni e As) (Astolfi et al., 2021).

L'acqua deionizzata ad alta purezza viene ottenuta attraverso il sistema di purificazione dell'acqua Milli-Q[®] Advantage A10 (Millipore, Bedford, MA, USA), preventivamente riempito con acqua ottenuta attraverso il sistema Elix 3 (Millipore, Bedford, MA, USA).

La soluzione madre standard multielemento utilizzata è stata IV-ICP-MS71A (10 µg mL⁻¹ ciascuno in 3% HNO₃) che comprendente 43 elementi (Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ho, K, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Ni, P, Pb, Pr, Rb, S, Se, Sm, Sr, Th, Tl, Tm, U, V, Yb e Zn).

Per l'analisi ultra-traccia (REE) è stata selezionata la soluzione standard stock CMS-1 (10 µg mL⁻¹ ciascuno in 5% HNO₃) comprendente 18 elementi (Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sc, Sm, Tb, Th, Tm, U, Y e Yb).

Entrambe le soluzioni standard sono state acquistate da Inorganic Ventures (Christiansburg, USA).

2.2. Strumentazione

Il laboratorio analitico per la tracciabilità alimentare è stato realizzato presso il Laboratorio Tracciabilità (FSN-SICNUC-TNMT) del Brasimone (Emilia-Romagna, Italia), dove sono presenti sia un Clean Laboratory per il pretrattamento dei campioni e la preparazione per l'analisi che una Camera Bianca (Standard ISO classe 6 - ISO 14644-1) con pressione, temperatura e umidità controllate. Questa camera bianca soddisfa tutte le richieste standard per l'analisi degli elementi in tracce presenti nel cibo, con un limite di concentrazione massima (particelle/m³) di 1 x 10⁶ per particelle uguali e maggiori di 0.1 µm.

Nella camera bianca si trova lo spettrometro di massa al plasma ad accoppiamento induttivo a triplo quadrupolo (ICP-MS-QQQ) modello 8800 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). La configurazione dello strumento include coni di interfaccia in nichel, lente ionica

standard e sistema di introduzione del campione costituito da un nebulizzatore concentrico in vetro MicroMist ($400 \mu\text{L min}^{-1}$), una camera di nebulizzazione Scott a doppio passaggio al quarzo raffreddata da un modulo termoelettrico Peltier fino a 2°C , per ridurre il vapore acqueo presente nell'aerosol del campione e una torcia schermata al quarzo con iniettore da 2.5 mm. Sia il Laboratorio Pulito (Clean Laboratory) che la Camera Bianca Standard ISO 6 sono costantemente monitorati per garantire il controllo della qualità che riduce il limite di rilevazione di tutti gli elementi, abbattendo gli inquinanti.

2.3. *Trattamento dei campioni*

La mineralizzazione è stata effettuata utilizzando un sistema di digestione a microonde, Speedwave Four (Berghof, Germania), dotato di controllo dei parametri di temperatura e pressione.

Di ciascun campione di olio EVO sono stati pesati 400 mg e messi direttamente nei vessel. I vessel sono poi stati riempiti con 7 ml di HNO_3 (69%) (Fluka, traceSELECT®) e 1 ml di H_2O_2 (30%) (Carlo Erba) come miscela acida per la preparazione della digestione del campione. Ogni ciclo di digestione è stato preparato con quattro vessel chiusi, ed è stato programmato il ciclo nel seguente modo:

- step 1: temperatura di 160°C , pressione 40 Bar per 15 min;
- step 2: temperatura di 100°C , pressione 40 Bar per 20 min;
- step 3: temperatura di 50°C , pressione 40 Bar per 10 min.

La miscela acida di mineralizzazione è stata testata con diversi rapporti di soluzione acida e quella utilizzata è stata quella con la minor quantità di miscela acida necessaria per ottenere, come prodotto finito, una chiara mineralizzazione.

Ciascun campione risultante dalla digestione acida è stato successivamente diluito a 50 ml con la stessa soluzione di processo più l'aggiunta del 2% di una soluzione di HNO_3 al 69% e dell'1% di HCl al 37%.

La diluizione è stata effettuata utilizzando vials in polietilene.

Per l'analisi multielemento, i campioni di olio EVO sono stati diluiti un'altra volta con diluizione 1:2 con un volume finale di 10 ml. La concentrazione di acido nel campione finale era 7,84% HNO_3 e 0,42% HCl.

Per l'analisi delle tracce ultra i campioni di olio EVO sono stati analizzati così com'erano.

2.4. *Validazione dei parametri del metodo*

Il limite di rilevabilità (LOD) e il limite di quantificazione (LOQ) per ciascun elemento sono stati stabiliti sia per lo strumento che per il processo, secondo la raccomandazione EURACHEM.

I primi sono stati calcolati partendo dall'analisi di cinque bianchi di strumento con tre replicati ciascuno.

Il bianco dello strumento indica la soluzione che trasporta lo strumento: 2% di HNO₃ e 1% di HCl.

Per determinare le deviazioni standard di LOD e LOQ ottenuti per ciascun elemento sono state moltiplicate rispettivamente per 3 (3 σ) e per 10 (10 σ) (Letsoalo et al. 2021).

La stessa considerazione è stata fatta per il calcolo di LOD e LOQ per il processo, analizzando cinque processi di bianco, con tre repliche ciascuno.

Il bianco del processo si riferisce alla stessa quantità, 7 mL più 1 mL di soluzione al 69 % di HNO₃ e rispettivamente al 30-32 % di H₂O₂, analizzata con ICP-MS-QQQ dopo un ciclo di digestione acida e per ogni campione mineralizzato.

Linearità della calibrazione esterna. Sono state ottenute due curve di calibrazione. Uno con otto punti di concentrazione nell'intervallo ppb: 0.1 ppb, 0.5 ppb, 1 ppb, 5 ppb, 10 ppb, 50 ppb, 100 ppb e 150 ppb, per Be, B, Na, Mg, Al, P, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, Tl, Pb, Th e U.

L'altra per le REE nell'intervallo ppt: 0.1 ppt, 0.25 ppt, 0.5 ppt, 1 ppt, 5 ppt, 10 ppt, 25 ppt e 50 ppt, per La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb e Lu.

Accuratezza. Ai fini della validazione del metodo, è stato utilizzato uno Standard Reference Material (SRM) per validare l'efficienza dello strumento e per determinare sistematicamente un possibile bias dell'analisi (Barros et al. 2017; Cerveira et al. 2020).

Per i campioni di olio EVO non è stato possibile avere a disposizione materiali certificati con matrici uguali o simili; pertanto, è stato scelto un materiale a matrice organica prevalente: SRM-1573A (foglie di pomodoro) del NIST (Aceto et al. 2019).

Sono stati pesati 0.0200 g di Standard Reference Material da introdurre nel recipiente per la mineralizzazione. Le aggiunte di standard addizionate consistevano in 2 ml di soluzione standard originale ogni volta, per ottenere nel campione finale 16 ppb per elemento per quanto riguarda l'analisi in tracce multielemento e 40 ppt per l'analisi ultra-traccia.


Il campione SRM-1573A è stato preparato come tutti gli altri campioni di olio EVO e analizzato con lo stesso approccio.

L'efficienza dello strumento è stata verificata con il recupero del materiale analizzato con concentrazioni note.

Per coprire gli elementi, assenti nella composizione minerale dell'SRM-1573A, gli standard addizionati utilizzati per le curve di calibrazione sono stati aggiunti al recipiente prima del ciclo di digestione per avere un recupero completo per ciascun elemento.

Ripetibilità e riproducibilità. Per quanto riguarda la ripetibilità, SRM-1573A con aggiunta di standard addizionato è stato mineralizzato ed elaborato in ICP-MS-QQQ cinque volte, con tre replicati per ciascuna analisi.

Per la ripetibilità tra giorni, tre diverse mineralizzazioni di SRM-1573A con aggiunta di standard addizionato sono state mineralizzate e analizzate entro tre giorni, mantenendo tre repliche per ciascuna analisi.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	9	39

2.5. *Analisi Multivariata*


L'analisi multivariata, attraverso metodi chemiometrici, permette di conservare le informazioni utili minimizzando tempi e costi dovuti alle molteplici variabili legate all'osservazione di un sistema (Xiuhan et al., 2018; Liu et al., 2019).

Nel nostro caso, l'applicazione di strumenti chemiometrici è utile per valutare l'enorme numero di dati risultanti dall'analisi ICP-MS-QQQ, consentendo di indagare una possibile relazione tra i campioni di olio EVO e la loro origine di provenienza (Tamura, 2019; Yuan et al., 2020).

L'analisi delle componenti principali (PCA) è una delle tecniche più importanti per esplorare e selezionare le informazioni sui dati (Lever, 2017) e viene applicata in diversi ambiti, tra cui chimica (Granato et al., 2018; Malik et al., 2018), biologia (Giuliani, 2017; Yang et al., 2018), medicina (Jacob et al., 2019; Sidey-Gibbons and Sidey-Gibbons, 2019), economia (Rajput and Singh, 2019; Wan et al., 2019).

La PCA lavora trasformando le *variabili originali* in nuove variabili dette *variabili latenti*, o componenti principali, ottenute dalla combinazione lineare delle variabili originali in modo da essere ortogonali tra loro, rappresentando la base dello spazio ortonormale. La prima componente principale rappresenterà la varianza massima del sistema studiato, mentre la seconda, non correlata alla prima, rappresenterà la varianza residua massima, e così via fino a coprire la varianza totale del sistema. La rilevanza della PCA è principalmente dovuta alla sua capacità di ridurre la dimensionalità dei dati. Inoltre, questo metodo elimina le informazioni spurie, valuta la rilevanza relativa di ciascuna variabile e consente la visualizzazione degli oggetti in cluster o in classi, individuando al contempo la presenza di valori anomali.

In questo studio la PCA è stata eseguita con XLSTAT dal programma Addinsoft.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	10	39

3. Risultati

3.1. Validazione del metodo per l'analisi multielemento

Sono state utilizzate due diverse modalità di funzionamento: modalità *no gas* e modalità *He*. Il secondo è stato utilizzato per superare le sovrapposizioni spettrali dovute alle interferenze poliatomiche (Balcaen et al., 2015). La rimozione delle interferenze con He in modalità collisione non si basa su percorsi di reazione specifici (Yamada and Yamada, 2002), ma attraverso la Discriminazione dell'Energia Cinetica viene applicato un potenziale di decelerazione escludendo gli ioni a bassa energia (ioni poliatomici e ioni gas residui, quelli che hanno subito più collisioni con il gas cellulare He) (Yamada, 2015).

Gli isotopi analizzati in modalità *no gas* sono stati: Be, B, Na, Al, P, K, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Se, Ag, Cs, Tl, Pb, Th e U.

Gli isotopi analizzati in modalità *He* sono stati: Mg, Ca, Ni, Zn, Ga, As, Rb, Sr, Cd e Ba.

Le modalità selezionate, rispetto agli altri gas disponibili (idrogeno e ossigeno), sono state quelle che hanno fornito i migliori risultati secondo un elevato coefficiente di determinazione nella relativa curva di calibrazione.

I parametri ottimizzati sono stati: 3 repliche, 90 sweep/replica, 3 punti per pattern di picco e tempo di integrazione tra 0.30 e 3 secondi.

I LOD e LOQ di strumento e processo sono elencati nella tabella 1 ed espressi in parti per miliardo (ppb).


Linearità. La linearità della curva è stata stimata attraverso il coefficiente di correlazione R2 per ciascun elemento della soluzione multistandard come riportato in tabella 1, insieme all'isotopo dell'elemento, l'analisi della modalità gas, in un range di calibrazione compreso tra 0.1 e 150 ppb. I risultati della curva di calibrazione sono fortemente lineari per ciascun elemento, con il numero R2 più alto per Be, Rb, Cd, Th e U con un coefficiente di determinazione di 1.000 e il più basso ottenuto per Ca e Fe con un coefficiente di determinazione di 0.9995.

Accuratezza. Nella tabella 1 sono riportati i risultati con la deviazione standard relativa (RSD) in percentuale. Gli elementi elencati con * rappresentano quelli determinati con le addizioni di standard.

Tutti i campioni sono stati analizzati con due diverse diluizioni:

- 25 volte (1:25) per caratterizzare meglio le concentrazioni minori;
- 100 volte (1:100) per caratterizzare meglio la concentrazione più alta sotto l'intervallo di concentrazione prefissato.

Il valore del recupero è alto per Mg, K, Mn, Fe, Rb, Sr, con recuperi completi degli elementi. Al contrario, il valore di recupero più basso è quello di Ag con un recupero del 61.7%.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	11	39

Il parametro di ripetibilità è stato convalidato con la riproduzione del campione SRM-1573A accoppiato con l'aggiunta standard additivata multielemento IV-ICPMS-71A. L'analisi è stata riprodotta cinque volte in un giorno con tre repliche per campione. La tabella 1 mostra la concentrazione media ottenuta per ciascun elemento incluso nella soluzione standard multielemento espressa in ppb e la RSD in percentuale.

Ogni ripetizione è stata introdotta nello strumento con due diverse diluizioni, 25 volte (1:25) e 100 volte (1:100).

Il parametro di ripetibilità è stato convalidato con la riproduzione di SRM-1573A con aggiunta standard addizionata entro tre giorni. Ogni analisi è stata effettuata per le due diverse diluizioni: 25 volte (1:25) e 100 volte (1:100).

Come riportato nella tabella 1, quasi tutti gli elementi sono stati analizzati riproducendo risultati simili in giorni diversi, assicurando così la validità dei risultati.

3.2. Validazione del metodo per l'analisi delle REE

Lo strumento ICP-MS ha generalmente limiti di rilevabilità che sono i più convenzionali per le REE (Balaram, 2019), che coprono un intervallo di massa da 139 uma di La a 175 uma di Lu. Gli ioni poliatomici si presentano spesso come interferenze (Giuliani, 2017). Pertanto, gli ioni di ossido delle REEs sono per lo più potenziali interferenze spettrali per analisi medio-pesanti. Per superare questa sovrapposizione, viene utilizzato gas reattivo O_2 che conferisce maggiore rilevabilità e selettività rispetto agli altri gas reattivi (Holler et al., 2009; Sugiyama and Woods, 2012). I parametri ottimizzati per l'analisi delle REE erano gli stessi utilizzati per l'analisi multielemento.

Gli isotopi analizzati in modalità *no gas* sono stati Eu, Tb e Yb.

Gli isotopi analizzati con la modalità O_2 sono stati La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Dy, Ho, Er, Tm e Lu.


Non tutti gli elementi sono stati analizzati in modalità O_2 , a causa della non reattività con O_2 (Sugiyama and Woods 2012).

I LOD e LOQ di strumento e processo sono elencati nella tabella 2 ed espressi in ppt.

Linearità. Nella tabella 2 è riportato ogni elemento analizzato per l'analisi ultra-traccia, con il relativo isotopo, la modalità di funzionamento dello strumento e il coefficiente di correlazione (R^2) risultanti, in un intervallo di calibrazione compreso tra 0.1 e 150 ppt.

Chiaramente ogni elemento analizzato presentava un alto coefficiente di correlazione, in particolare Pr, Sm, Eu, Gd, Dy, Ho, Er, Tm, Yb e Lu, il cui coefficiente di correlazione era 1.000.

I parametri di accuratezza sono stati convalidati con il recupero della concentrazione di ciascun elemento dall'utilizzo di SRM-1573A con l'aggiunta standard addizionata della soluzione standard stock CMS-1. Al fine di verificare l'efficienza dell'analisi per gli elementi REE, per il

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	12	39

calcolo del recupero sono state prese in considerazione le concentrazioni aggiunte con lo standard addizionato, poiché le concentrazioni di tali elementi nello SRM erano indicative e non idonee per una misura accurata.

Nella tabella 2 sono elencate le percentuali di recupero degli elementi e la loro RSD a ciascun elemento con il relativo isotopo. Tutti gli elementi REE sono stati completamente recuperati. Inoltre, percentuali superiori al 100% indicano la bassa concentrazione in SRM-1573A che è stata certificata solo a scopo di consultazione.

La ripetibilità è stata verificata con la ripetizione della stessa analisi con tre repliche ciascuna. Lo SRM-1573A con aggiunta di standard additivato è stato analizzato cinque volte. I risultati sono riportati nella tabella 2 attraverso la concentrazione principale ottenuta espressa in ppt e RSD in percentuale. Circa 40 ppt di ogni REE sono stati introdotti con l'aggiunta standard addizionata. La concentrazione media riportata indica una concentrazione media soddisfacente calcolata dalle cinque ripetizioni.

La validazione del parametro di ripetibilità è stata realizzata preparando lo stesso campione utilizzato per la ripetibilità ma entro tre giorni. Ogni giorno veniva condotta una nuova analisi. I risultati sono mostrati nella tabella 2. Tenuto conto del contributo di concentrazione degli standard addizionati, i dati riportati indicano non solo una solida affidabilità dovuta alla ripetizione dei risultati, ma anche una sostanziale coerenza rispetto al valore ottenuto.

3.3. *Caso studio: analisi multielemento e REE dei campioni di olio EVO*

Per visualizzare meglio i risultati ottenuti, i campioni sono stati raggruppati in quattro zone geografiche: Centro Italia, Sud Italia, Albania e campioni COOP commerciali per caratterizzare l'olio EVO delle diverse aree geografiche (Bronzi et al., 2020; Squadrone et al., 2020).

L'Italia centrale comprende Toscana, Marche e Liguria, mentre l'Italia meridionale si riferisce ad Abruzzo, Calabria, Campania, Puglia e Sardegna.

In generale, l'olio EVO del sud Italia ha valori multielemento e REE più elevati rispetto all'olio EVO del Centro Italia (rispettivamente 120 ppb e 40 ppb per multielemento e 40 ppt e 25 ppt per REE rispettivamente), come mostrato in Figura 1. Due campioni di olio EVO provenienti dall'Albania sono stati analizzati per avere un'idea della composizione minerale di un olio estero, la cui impronta minerale ottenuta sembra simile a quelle italiane.

Nel dettaglio, la Figura 1a riporta i risultati multielemento per il Centro Italia. Il ferro è l'elemento maggiormente presente (con un valore massimo di 39.523 ppb), seguito da P, Ca, Al e K. Oltre alla loro importanza tossicologica e nutritiva, i metalli svolgono un ruolo importante nella stabilità degli oli d'oliva e la presenza di Fe, Cu, Cr e Mn sono stati osservati in vari studi (Kabaran et al., 2020; Mirón et al., 2020). Tutti i campioni raccolti nell'Italia centrale mostrano valori simili, ad eccezione di Fe e Ca, che sono superiori a quelli descritti da Beltrán et al. (2015) o Sayago et al. (2018). Inoltre, i valori di Na e K sono più elevati rispetto a quelli descritti da Camin et al. (2010) o Zeiner et al. (2010), ad eccezione del campione di olio EVO Liguria.

D'altra parte, i livelli di elementi tossici come As, Cd, Ni e Pb sono significativamente inferiori a quelli riportati in altri lavori in letteratura (Camin et al., 2010a, Camin et al., 2010b, Zeiner et al., 2010; Karabagias et al., 2013, Sayago et al., 2018).

Osservando l'olio EVO raccolto in Toscana ma di anni diversi (2013 e 2014 in Fig. 1a), è importante notare che il campione del 2014 mostra un livello più alto di tutti gli elementi rispetto al campione del 2013, ad eccezione di Ca, Cr e Zn. Inoltre, la concentrazione di Fe nel campione 2014 è la più alta di tutti gli altri campioni del Centro Italia (39.523 ppb, come precedentemente descritto). I dati sul Fe ottenuti sono simili a quelli riportati da Cabrera-Vique et al. (2012), che hanno riscontrato concentrazioni di Fe comprese tra 3.350 e 66.470 $\mu\text{g kg}^{-1}$ di Granada, Andalusia, Spagna negli oli di oliva vergini, ma inferiori a quelle riportate da Mendil et al. (2009) su olio d'oliva dalla Turchia ($\text{Fe} = 139.0 \pm 10.1 \mu\text{g g}^{-1}$) e da Zeiner et al. (2010) sull'olio d'oliva vergine della Croazia ($\text{Fe} = 1,81 \pm 1,76 \mu\text{g g}^{-1}$). Questi autori hanno spiegato che queste differenze tra i contenuti degli elementi potrebbero essere attribuite all'origine geografica (Cabrera-Vique et al., 2012) e potrebbero essere utilizzate per la loro caratterizzazione locale (Wali et al., 2021). Altri autori ipotizzano che questa differenza possa derivare da fertilizzanti o contaminazione durante la lavorazione e lo stoccaggio (Keceli and Gordan, 2001; Gouvinhas et al., 2016). L'olio EVO Liguria è quello che mostra i valori più bassi in tutti gli elementi (Fig. 1a).

La Figura 2b illustra la composizione principale delle REE presenti nei campioni dell'Italia centrale. Ce, La e Nd sono gli elementi più presente e l'olio EVO della Liguria (colorato in verde in Fig. 1b) è il campione con i valori più alti.

Se si confronta la Figura 1a con la Figura 1c, è evidente come i livelli di concentrazione multielemento siano più elevati negli oli EVO del Sud Italia (Fig. 1c), raggiungendo una concentrazione elevata per Fe con un valore massimo nel campione abruzzese (2017) con 111.840 ppb. Apparentemente, i campioni di olio EVO del sud mostrano una concentrazione più simile tra loro, ma la scala cambia (120 ppb). I campioni di olio EVO provenienti dal sud si differenziano, infatti, tra loro nella concentrazione di Fe, Ni (come dichiarato anche da Benincasa et al., 2007), ma anche in Al e K. Le concentrazioni di Na riscontrate in questi campioni sono comprese nell'intervallo 1.754 ppb (Sardegna) – 10.764 ppb (Calabria) che è simile a quello trovato in Zeiner et al. (2010), Beltran et al. (2015) o Benincasa et al. (2012) ma 50 volte inferiore ai livelli riportati negli oli d'oliva portoghesi (Gouvinhas et al., 2016). Le concentrazioni di Mn misurate sono inferiori a 1 ppb, che è 10 volte inferiore a quelle degli oli d'oliva di cinque diverse regioni geografiche dell'Italia centro-meridionale (Rossano, Andria, Lamezia, Spoleto e Pescara) (Benincasa et al., 2007) e 100 volte inferiore a quello precedentemente riportato in Benincasa et al. (2012), ma in una gamma simile a quella degli oli d'oliva italiani di Sicilia e Toscana (Camin et al., 2010b).

Anche in questi campioni i livelli di elementi tossici come As, Cd, Ni e Pb sono significativamente inferiori a quelli riportati in altri lavori, come precedentemente descritto.

Osservando i campioni di olio EVO raccolti in Campania ma di anni diversi (2015a, 2015b e 2017), è importante notare che il campione del 2017 mostra un livello maggiore della maggioranza degli elementi rispetto al campione degli altri due, ad eccezione di Na e Al, che mostrano valori raddoppiati rispetto a quelli del 2017. Inoltre, il campione di olio EVO Calabria raccolto a Crotona (2015a) mostra un valore elevato di tutti gli elementi rispetto ai campioni di

olio EVO raccolti a Castrovillari (2015b) e Rossano (2015c). Infine, nei campioni pugliesi non si osservano rilievi.

Inoltre, per la Figura 1d, si nota facilmente come la concentrazione di lantanidi sia maggiore per i campioni del Sud Italia, raggiungendo i valori più alti per due campioni calabresi (2015a e 2015c, rispettivamente colorati in arancione e giallo).

I due campioni di olio EVO provenienti dall'Albania avrebbero dovuto avere concentrazioni simili fra loro, poiché l'olio EVO è stato prodotto nello stesso frantoio, dalle stesse olive e piante. Il campione di olio EVO 2014 mostra valori più elevati in K, Ca, Fe, Ni, Zn, mentre il campione di olio EVO 2015 in Na, Mg, Al, P e Sr (Fig. 1e). Generalmente i campioni provenienti dall'Albania appaiono simili per valore di concentrazione al campione di olio EVO del centro Italia, ma con il valore di Ca più alto come per altri campioni di olio EVO del sud Europa, come ad esempio in Spagna (Sayago et al., 2018), Croazia (Zeiner et al., 2010), Grecia (Karabagias et al., 2013).

Per quanto riguarda l'analisi multielemento, i due campioni provenienti dall'Albania appaiono simili per valore di concentrazione al campione di olio EVO del Centro Italia. Anche in questo caso, i due campioni di olio EVO dell'Albania presentano differenze nella maggior parte degli elementi REE, ma generalmente i campioni raccolti nel 2015 hanno un valore maggiore rispetto al campione raccolto nel 2014 (Fig. 1f).

I tre campioni di produzione COOP mostrano una concentrazione simile ai campioni di olio EVO dell'Albania, con un valore massimo di Fe intorno a 30 ppb (Fig. 1g). Sono presenti anche Al e Ca come per tutti gli altri campioni di olio EVO.

I due campioni COOP Fiore mostrano valori simili tra loro per gli elementi REE, questo potrebbe confermare una provenienza simile (Fig. 1h). Diverso valore, invece, ha il campione di olio EVO COOP Costanza, probabilmente di diversa provenienza. Generalmente i valori di REE in COOP FIORE sono simili a quelli del Centro Italia (ad eccezione dell'olio EVO ligure). Il contrario è per l'olio EVO COOP Costanza, che mostra valore simile ai campioni di olio EVO raccolti nel Centro Italia. Tuttavia, i risultati nella Figura 2h sono diversi dai risultati nella Figura 2g, dove i due oli EVO COOP Fiore sono significativamente diversi nel contenuto di Na, Al, Fe e Zn, mentre l'olio EVO COOP Costanza ha una concentrazione più simile a uno di essi. Tutte queste considerazioni potrebbero darci una buona informazione relativa alla possibile provenienza dell'olio EVO italiano COOP FIORE e COOP Costanza.

Da letteratura, ricercatori scientifici hanno riportato che il contenuto minerale è solitamente influenzato dalle condizioni agroambientali e dalla diversità genetica dell'olivo (Gouvinhas et al., 2016; Wali et al., 2021), che riflette sicuramente l'origine della provenienza (Fernández-Calderón et al., 2020). Il contenuto di metalli in tracce nell'olio EVO è inoltre un criterio importante per la valutazione della qualità dell'olio in relazione alla loro influenza sulla nutrizione e sulla salute umana.

I contenuti di Ni, As, Cu, Fe, Cd e Pb in tutti i campioni analizzati sono riportati nella tabella 3. Soprattutto As, Cd e Pb sono molto importanti per la loro tossicità ed il loro ruolo metabolico perché catalizzano la decomposizione di idroperossidi, aldeidi, chetoni, acidi ed epossidi (Manjusha et al., 2019; Yassin et al., 2021). Questi composti potrebbero aumentare l'effetto cancerogeno soprattutto sull'apparato digerente reagendo con proteine e pigmenti presenti negli alimenti (Taghizadeh et al., 2020; Taghizadeh et al., 2021; Ghane et al., 2022).

I risultati ottenuti rivelano che il contenuto di Ni più elevato è stato registrato nel campione di olio EVO Abruzzo 2017 (28.971 ppb).

Generalmente i campioni pugliesi hanno un alto valore di Ni, intorno a 3 e 4 ppb.

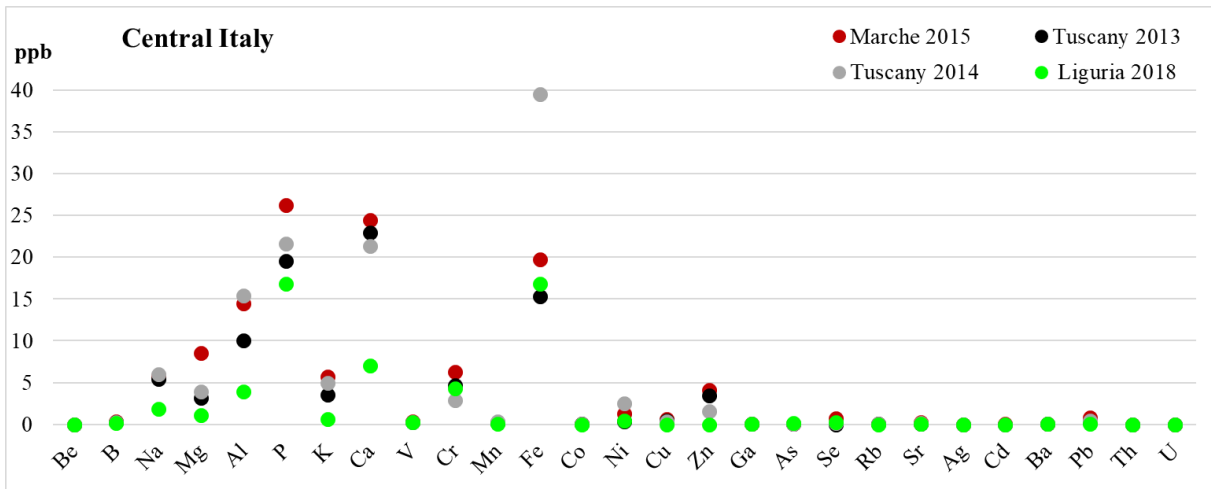
È interessante, inoltre, notare che la concentrazione di Ni nello stesso olio EVO ma con diverso anno di produzione mostra un valore diverso di questo metallo, ad esempio Puglia con concentrazione molto diversa di Ni e Toscana 2013 e 2014 con valore di Ni rispettivamente 0.305 ppb e 2.517 ppb.

Il campione Calabria 2015a proveniva da Crotone mostra un valore di contaminanti maggiore rispetto agli altri campioni calabresi raccolti nello stesso anno ma in due piccoli centri rispetto a Crotone. Ciò potrebbe essere correlato al maggiore inquinamento della città di Crotone che potrebbe interessare la pianta dell'olivo e di conseguenza l'olio.

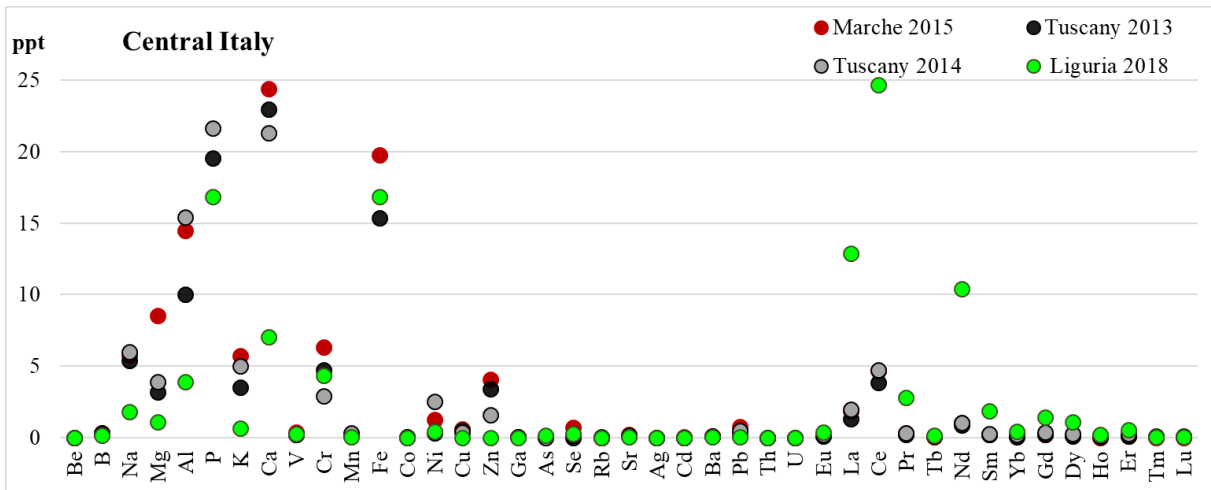
Invece il valore Ni dei due campioni di olio EVO campano è molto simile.

Tutti questi valori sono inferiori rispetto ad altri campioni di olio EVO, ad esempio rispetto all'olio EVO iraniano (Ziarati et al., 2019). Il contenuto di As più alto si registra nel campione Campania 2017, ma generalmente con valore molto basso in tutti i campioni analizzati. La tabella 3 mostra anche il contenuto di Cd, per il quale si registra il valore più alto nel campione Campania 2017 come contenuto di As, ma anche in questo caso inferiore a quelli degli altri campioni di olio EVO (Ziarati et al., 2019). Inoltre, la concentrazione di Pb più alta si registra nei campioni Calabria 2015a e Puglia 2016 (range intorno a 1 ppb), inferiore a quelli degli altri campioni di olio EVO (La Pera et al., 2002; Ziarati et al., 2019). Infine, le concentrazioni di Cu misurato è 0.35 ppb sia per i campioni prelevati al nord che al sud Italia, valore molto inferiore a quelli precedentemente riportati in Argentina (Savio et al., 2014), Spagna (Cabrera-Vique et al., 2012) e anche in Italia (Astolfi et al., 2021), tuttavia questi risultati confermano che il contenuto di Ni, As, Cd e Pb in tutti i campioni italiani analizzati non supera i limiti fissati dal Codex Alimentarius e dall'USDA (2001) e dall'International Olive Oil Council (2009) relativo ai metalli regolamentati (As, Cu, Fe e Pb). I contenuti medi di V nei campioni di olio EVO sono rispettivamente di 0.259 e 0.296 per i campioni del nord e del sud e sono significativamente inferiori rispetto all'olio EVO europeo (Beltrán et al., 2015; Llorent-Martínez et al., 2011a; Pošćić et al., 2019) ma anche in altri lavori italiani, come descritto in Astolfi et al. (2021), in cui il valore medio di V è pari a 0.52.

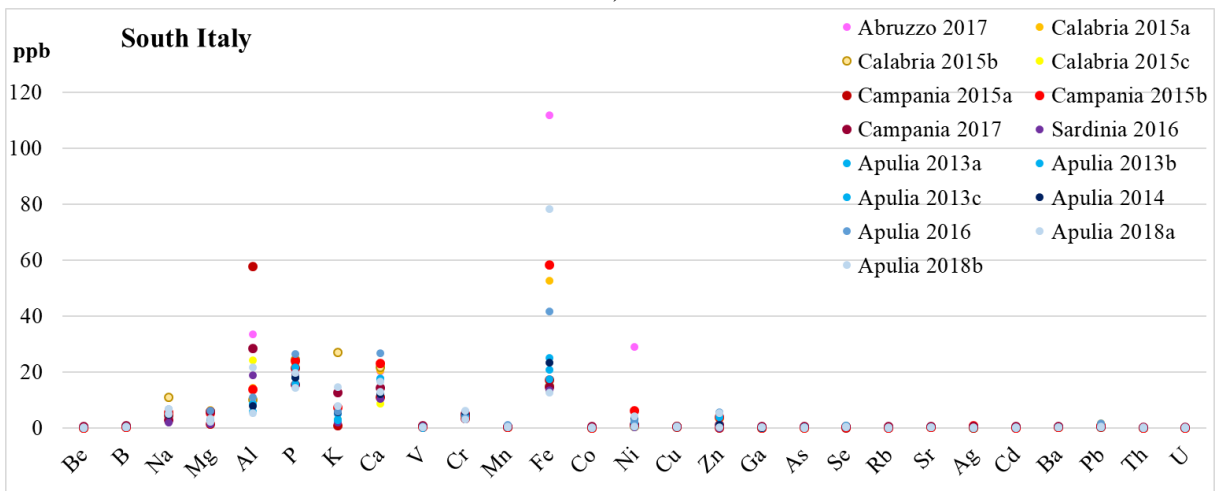
Confrontando i nostri dati con quelli di altre ricerche scientifiche, generalmente, le REE vengono rilevate in quantità simili a quelle precedentemente riportate da Sayago et al. (2018) e in quantità maggiore rispetto a quelle riportate da Camin et al. (2010a and 2010b).



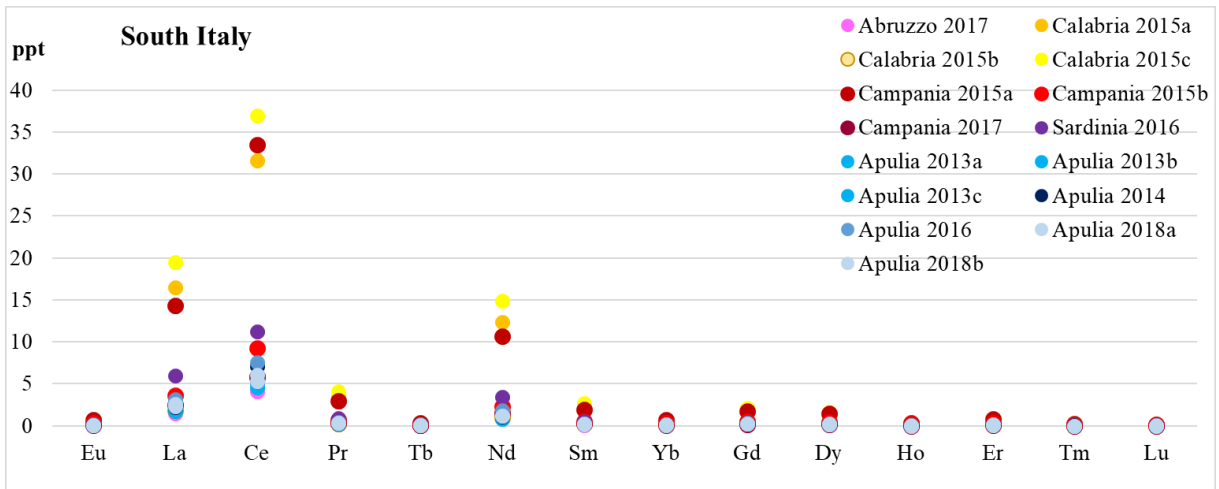
a)



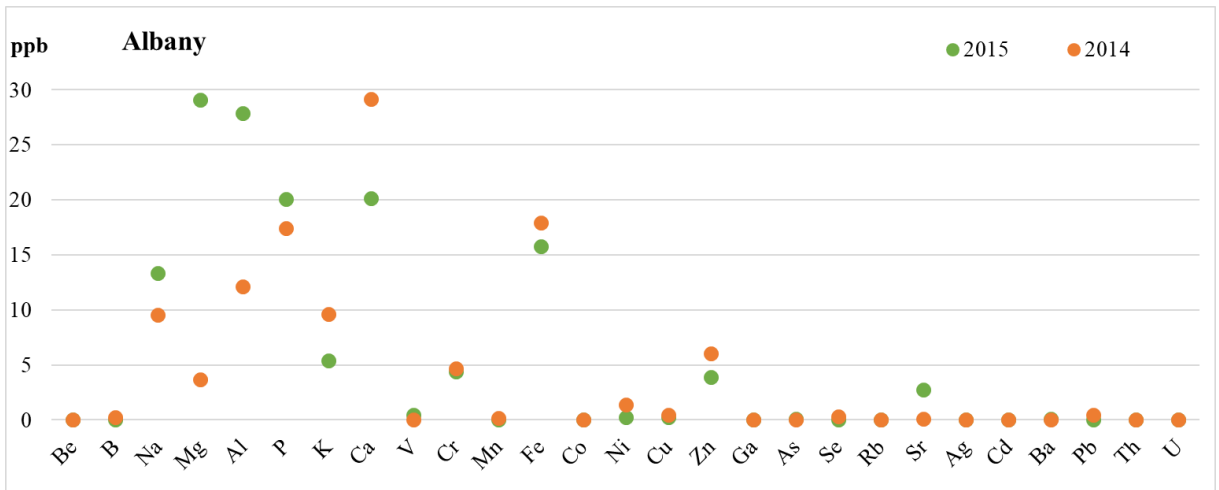
b)



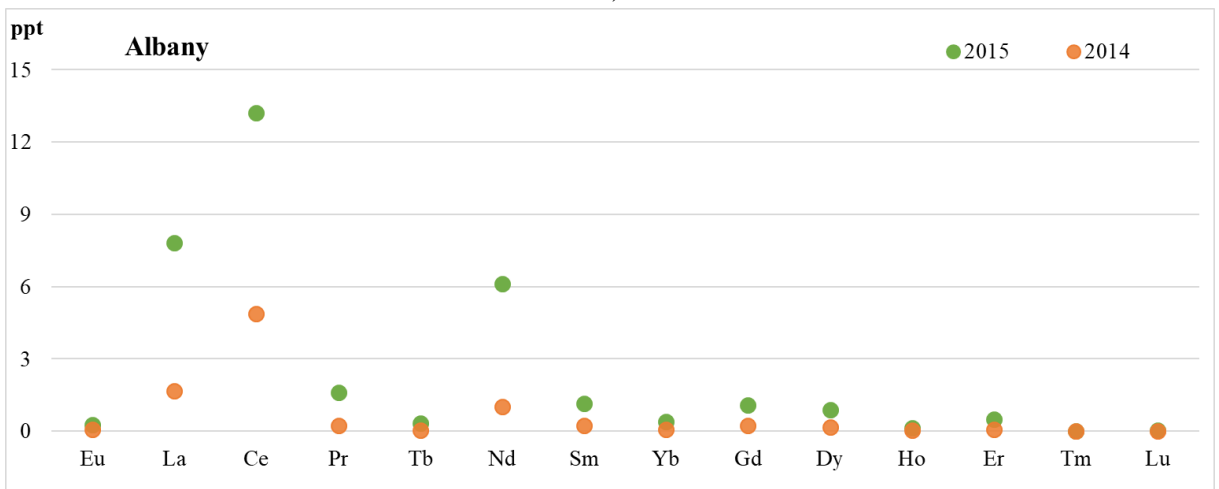
c)



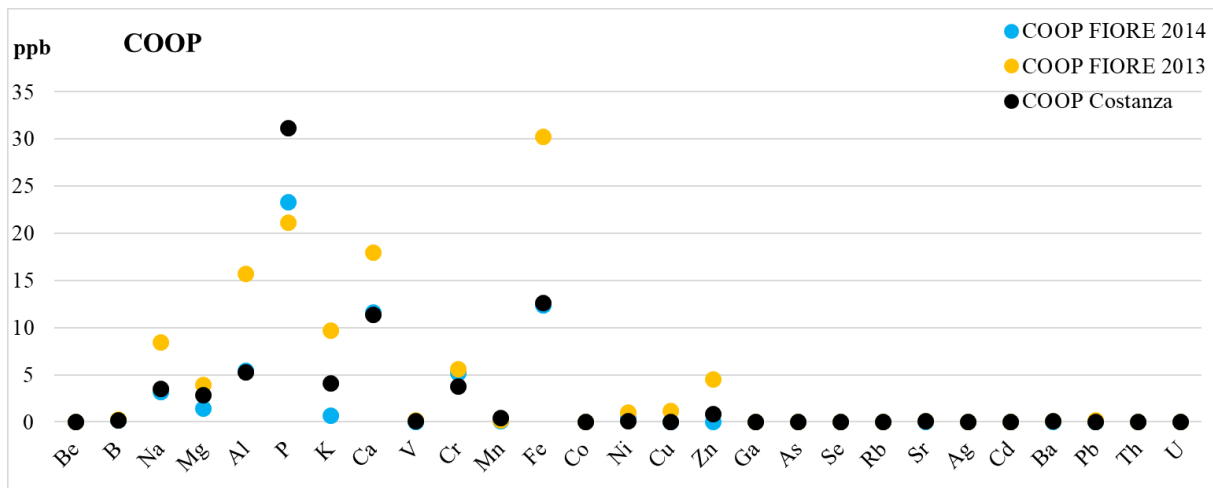
d)



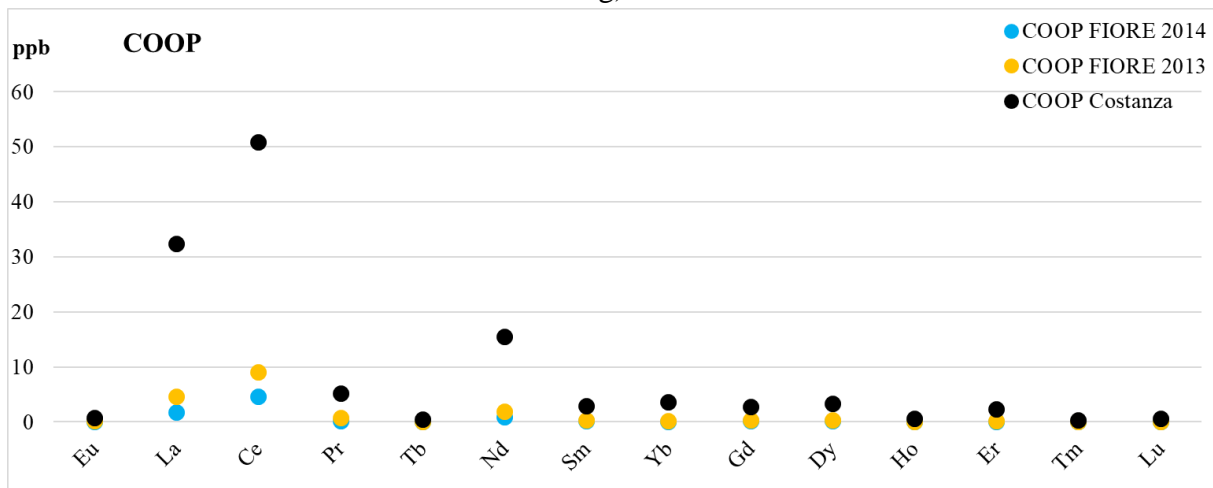
e)



f)



g)



h)

Figura 1. Rappresentazione dei dati multielemento e ultra-traccia (REE) per campioni di olio EVO, espressi rispettivamente in ppb e ppt: a) multielemento nel Centro Italia; b) REE nel Centro Italia; c) multielemento nel Sud Italia; d) REE nel Sud Italia; e) multielemento in Albania; f) REE in Albania; g) multielemento in olio EVO COOP; h) REE in olio EVO COOP.

3.4. Analisi multivariata

La PCA è stata applicata per una valutazione preliminare della qualità dei dati.

Nell'analisi PCA, gli autovalori rappresentano la varianza associata alla relativa componente principale. La somma di tutti gli autovalori è uguale alla varianza totale dei dati. Assumendo che ogni autovalore < 1 sia associato all'informazione rilevante più bassa, questi dati potrebbero essere eliminati senza conseguenze. Per fare ciò, le prime otto componenti principali con ciascun autovalore, la variabilità (espressa in percentuale) e la varianza cumulativa (espressa in percentuale) sono riportate nella tabella 4 e nello Scree Plot in Fig. 2, per rappresentare graficamente il peso di ogni componente sulla varianza totale.

La tabella 4 riflette la qualità delle proiezioni dalla tabella iniziale N-dimensionale a un numero inferiore di dimensioni. Il primo autovalore pari a 15.004 rappresenta il 36.6% della varianza

del sistema. Osservando la varianza cumulativa PC1 e PC2, le prime due componenti principali rappresentano il 60.4% della variabilità iniziale. PC1 rappresenta la varianza massima e, essendo ortogonale a PC2 per la costruzione, non è correlato ad essa. PC2 rappresenta la massima varianza residua.

Il grafico scree plot rappresenta, quindi, gli autovalori in funzione del numero di PC (Fig. 2). La selezione dei PC viene effettuata in base a un forte decremento della curva verso l'asintoto orizzontale. La distinzione dei primi due PC è già graficamente chiara rispetto agli altri successivi.

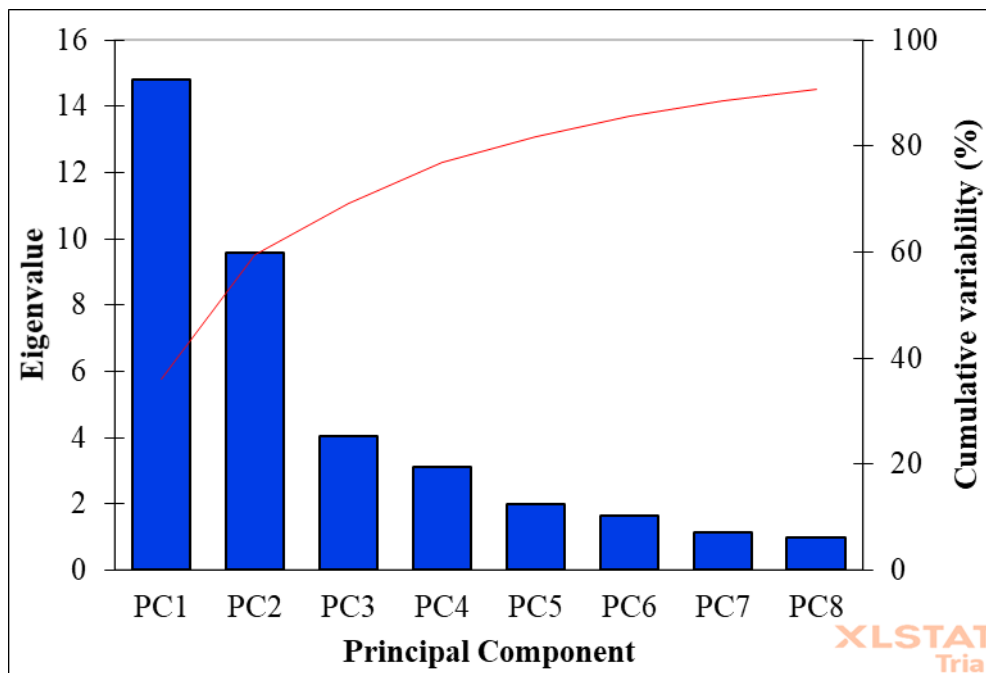



Figura 2. Screen plot relative ai dati in tabella 4, ottenuti con il software XLstat Addinsoft.

Quindi, per analizzare graficamente il ruolo delle variabili, è necessario un diagramma PCA. Nella figura 3 è riportato un cerchio di correlazione, che descriveva non un intervallo di confidenza ma un grafico della correlazione tra le variabili e le componenti principali (PC1 e PC2). L'asse orizzontale rappresenta PC1 e l'asse verticale PC2, mentre i vettori rossi riflettono le variabili studiate. In base alla lunghezza di ciascun vettore, viene spiegata la qualità della rappresentatività nelle dimensioni PCA studiate; più un vettore è lungo più è rappresentato da queste due componenti principali. I più brevi potrebbero essere meglio spiegati da altri fattori (Popović et al., 2020).

Le REE sono ben rappresentate da PC1 che riporta La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb e Lu. Le REE formano un angolo retto con alcuni dei contaminanti ben rappresentati da PC2, denotando che non sono correlati tra loro.

I contaminanti riportati nell'asse PC2 sono Cd, As, V, Ba, Tl, Th e U. Questo dato è molto importante, perché questi contaminanti generalmente entrano nell'agroecosistema del suolo attraverso processi naturali e attività antropogeniche (Li et al., 2019; Mng'ong'o et al., 2021).

Nel dettaglio, il Cd è uno dei metalli tossici più monitorati, per le sue rilevanti conseguenze sulla salute umana, e viene ceduto agli alimenti attraverso i fertilizzanti, in particolare quelli a

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	20	39

base di P, e attraverso i sistemi di confezionamento (Osman et al., 2019). La concentrazione di Cd nei fertilizzanti fosfatici è motivo di grande preoccupazione e la sua quantità consentita è stata continuamente discussa dalla Commissione Europea (Ulrich, 2019; Zheng et al., 2020; Liu et al., 2021). Quasi tutti i fertilizzanti fosfatici sono prodotti da roccia fosfatica (El-Bahi et al., 2017). Inoltre, la contaminazione da Cd dei fertilizzanti si accumula principalmente nella sabbia del suolo di produzione delle colture, il suo accumulo potrebbe essere maggiore nei suoli del Mediterraneo meridionale, dove le piogge sono meno frequenti, ostacolando così la lisciviazione (Nardi et al., 2017; El-Sherbiny e Sallam, 2021). In Fig. 3, il Cd è rilevante nell'analisi del grafico. Conoscendo la bassa contaminazione del sito di campionamento geograficamente non così vicino alla rotta importante (tranne che per un solo sito), l'alto valore di questo contaminante potrebbe essere correlato alle pratiche agronomiche attraverso l'uso di fertilizzanti fosfatici (Dharma-wardana, 2018; Schaefer et al., 2020).

Un altro elemento che può essere facilmente introdotto nella catena alimentare è As, la cui distribuzione è stata definita dall'Autorità Europea per la sicurezza alimentare per lo più presente nei prodotti alimentari e nell'acqua corrente (Autorità Europea per la sicurezza alimentare, 2014) e potrebbe essere presente nella composizione di alcuni pesticidi (Osman et al., 2019).

Nei pesticidi anche il Ba è rintracciabile. In Fig. 3, As e Ba, come per Cd precedentemente descritto, sono rilevanti nell'analisi del grafico. Ciò potrebbe confermare un possibile inquinamento da pratiche agronomiche aggressive.

Inoltre, V si accumula nella composizione del suolo e può causare gravi danni alle colture, anche se è naturalmente presente anche nei tessuti delle piante (Li et al., 2020; Dong et al., 2021). La diffusione di V nell'atmosfera e successivamente la sua deposizione nel suolo, è spesso dovuta a ragioni antropiche, poiché è principalmente rilasciato dalla combustione dei prodotti petroliferi e dalle attività legate all'industria siderurgica. Le emissioni antropiche del vanadio superano quelle naturali di un fattore 1.7 (Schlesinger et al., 2017). Nel diagramma di Fig. 3, il V non è così importante come i contaminanti precedenti, ma la sua presenza aggiunge importanza alla possibilità di contaminazione antropica (Beltrán et al., 2015). Questi elementi differiscono da metalli come Ni, Cu, Zn e Pb, le cui concentrazioni erano costanti nei campioni di olio EVO. Inoltre, a basse concentrazioni, metalli tossici come Ni, Cu e Zn sono microelementi essenziali per il ruolo metabolico e la riproduzione di piante, animali ed esseri umani (Ameen et al., 2019; Hussain et al., 2020).

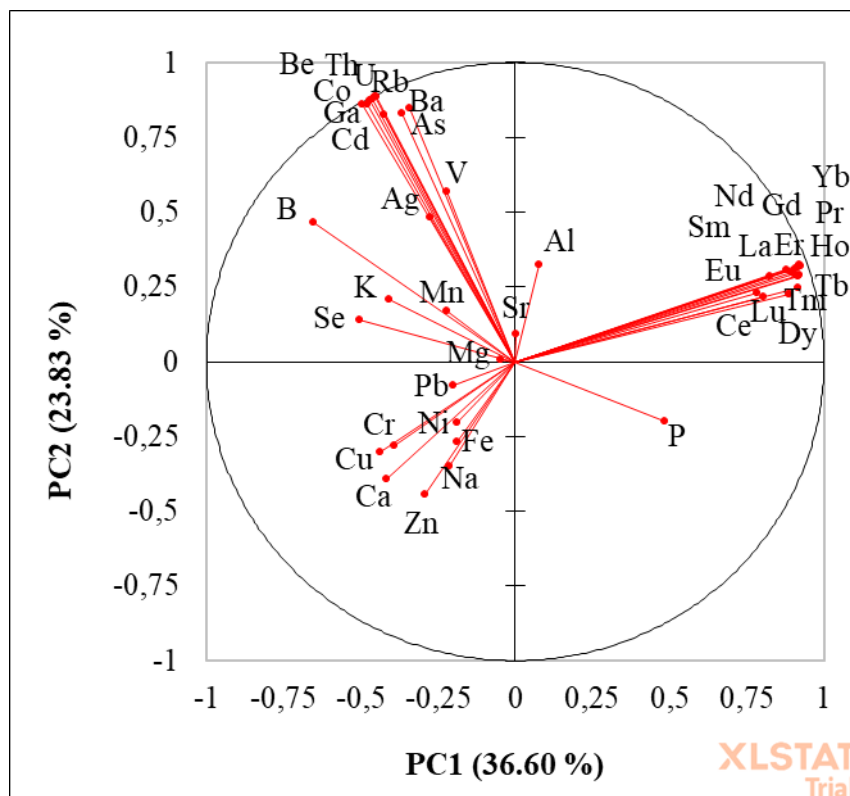


Figura 3. Loadings plot dei dati ottenuti dall'analisi dei campioni di olio EVO e analizzati tramite il software XLstat Addinsoft. I vettori rossi riflettono le variabili investigate.

Il grafico score plot generalmente viene utilizzato per identificare la separazione tra i campioni di olio EVO in relazione agli elementi rappresentanti qualità, cultivar, provenienza geografica e/o metodo di lavorazione (Bhandari et al., 2018).

La figura 4 presenta la distribuzione grafica (score plot) dei campioni di olio EVO in relazione alla provenienza geografica, secondo i valori delle prime due componenti principali (PC1 e PC2) (come meglio spiegato in Rongai et al., 2017). Ogni punto nel grafico, rappresenta un campione ed è colorato in base alla loro origine di provenienza.

La maggior parte dei campioni di olio EVO è raggruppata nella parte inferiore del grafico, ad eccezione del campione campano (Perdifumo – SA, 2015) e di quello pugliese (Molfetta – BA, 2018b). I campioni di olio EVO della Calabria e dell'Albania seguono un andamento diverso: i due campioni dell'Albania sembrano trovarsi in due quadranti diversi, anche se sempre nella parte inferiore del grafico (2014 nella parte sinistra e 2015 nella parte destra); mentre i campioni di olio EVO della Calabria, oltre ad essere in quadranti diversi, si trovano anche in posizioni diverse rispetto allo zero sia di PC1 che di PC2. Infine, il campione della Liguria si trova assieme ad un campione della Campania (Valturrara – AV, 2017) e i due restanti della Calabria (Crotona – CR, 2015a e Rossano – CS, 2015c) nel quadrante in alto a destra (quadrante opposto rispetto al quadrante in cui si trovano la maggior parte dei campioni). Un caso particolare è quello della Sardegna, che assieme ad un campione campano (Pimonte – NA, 2015) si trovano nella parte centrale del grafico, dove si intersecano i vettori 0 sia di PC1 che di PC2.

Il grafico di figura 4 permette di discriminare i campioni di olio EVO in base alla loro distribuzione grafica in relazione alla provenienza geografica, secondo gli elementi quantificati

dall'analisi ICP-MS-QQQ. I campioni di olio EVO della stessa origine geografica sono molto vicini tra loro, fatta eccezione per i campioni di olio EVO della Campania, e soprattutto per i due campioni di olio EVO della Campania raccolti nello stesso luogo ma in anni diversi. Questo dato potrebbe essere una base importante per futuri studi, per meglio caratterizzare l'area di campionamento, per conoscere cambiamenti nel suolo o sulla pianta magari in relazione al cambiamento climatico o al diverso uso di fertilizzanti.

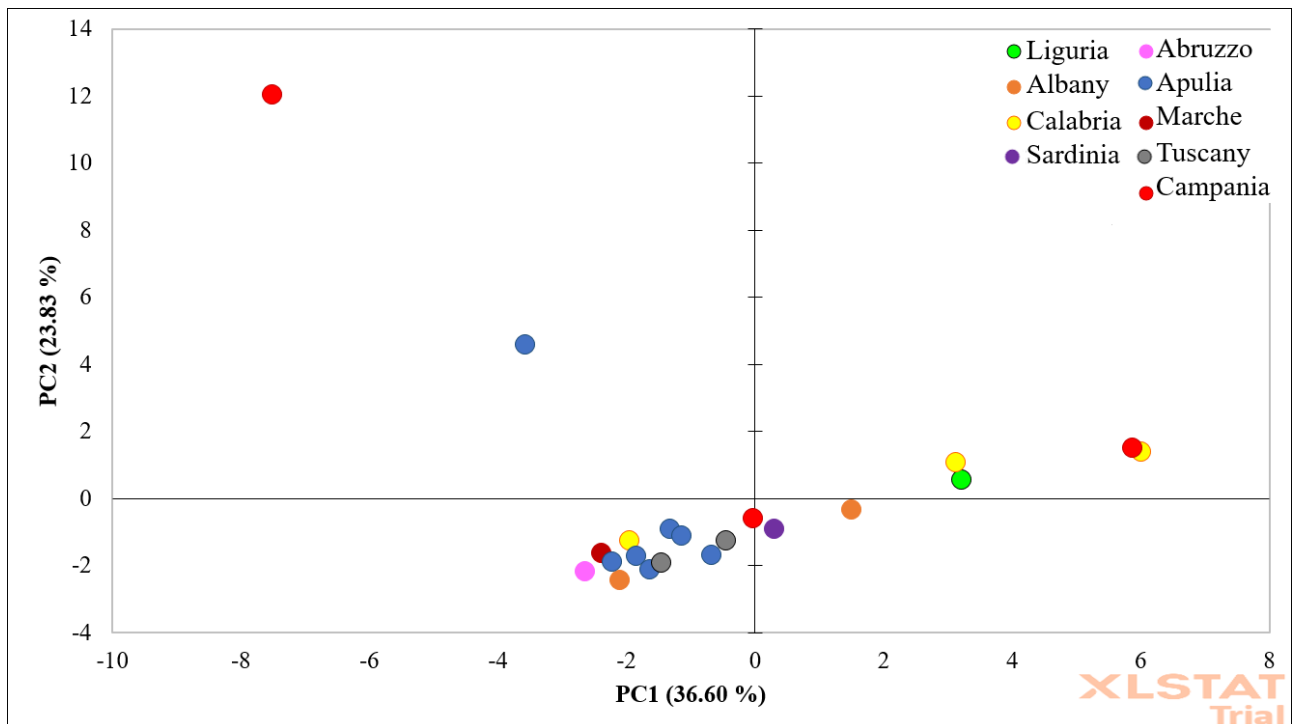


Figura 4. Score plot dei dati ottenuti in ICP-MS-QQQ dei campioni di olio EVO analizzati tramite il software XLstat Addinsoft.

Per completare l'analisi PCA, in Figura 5 è riportato un biplot (seguendo le direttive di Green et al., 2020).

Il cluster nel lato negativo di PC1 e PC2 (in basso a sinistra del grafico di Fig. 5) rappresenta campioni caratterizzati da un valore elevato degli elementi principale presenti in un olio EVO, come Zn, Cu e principalmente Fe, come ci aspettavamo (Martinez et al., 2018). Nel biplot è chiaro come due campioni ricadano nell'area dei contaminanti con concentrazioni di elementi tossici maggiori rispetto agli altri (Campania, Perdifumo – SA, 2015; Puglia, Molfetta – BA, 2013c). I campioni che ricadono nell'asse relativo agli elementi REEs sono campioni che si distinguono dalla massa per la loro particolare alta definizione di composizione ultra-traccia di elementi di terre rare (Farmaki et al., 2011; Drivelos et al., 2016).

Per quanto riguarda i tre campioni di olio EVO industriale, i due COOP Fiore (2013 e 2014) sono molto simili alla maggior parte dei campioni analizzati, mentre il campione COOP Costanza si colloca nella stessa parte della figura dei campioni di Calabria e Liguria, ma con un valore maggiore di elementi REE.

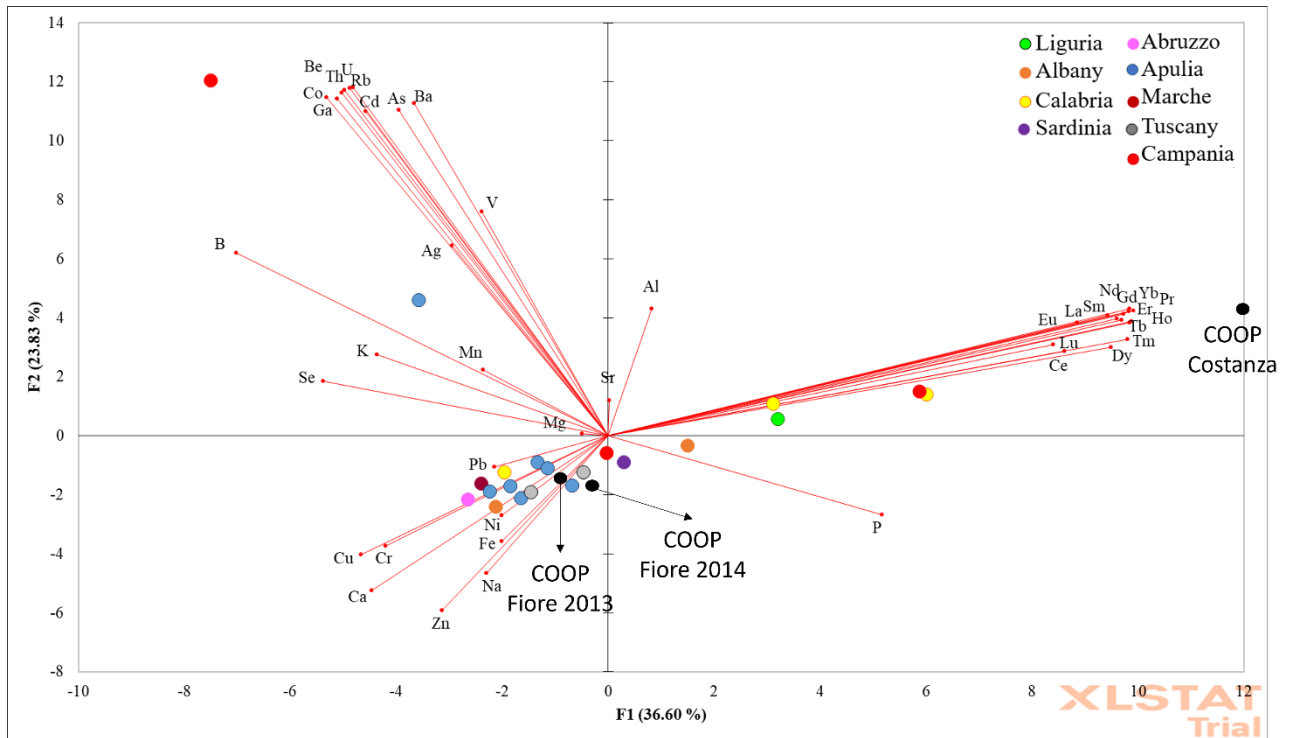


Figura 5. Biplot dei dati ottenuti in ICP-MS-QQQ dei campioni di olio EVO analizzati con il software XLstat Addinsoft. In nero i tre campioni di olio EVO industriali. I vettori rossi riflettono le variabili investigate.

4. Conclusioni

Questo lavoro si è concentrato sulla ricerca di un metodo affidabile per analizzare molti campioni di olio EVO provenienti da diverse aree.

Le fasi fondamentali dello sviluppo di questo metodo sono state la mineralizzazione del campione e l'analisi del campione. Per la prima sono state saggiate diverse miscele di acidi in modo da utilizzare la quantità minima di acido avendo contemporaneamente una soluzione limpida, senza alcuna matrice organica dispersa nella soluzione.


Per la fase di analisi sono state testate diverse diluizioni al fine di ottenere una lettura del campione adatta con una curva di calibrazione calcolata per contenere il range di concentrazione di ciascun elemento.

Inoltre, il metodo sviluppato è stato validato con successo secondo alcuni parametri che devono essere ottimizzati per realizzare un metodo affidabile: linearità, accuratezza, LOD e LOQ di strumento e di processo, ripetibilità e riproducibilità.

Inoltre, l'utilizzo dell'ICP-MS a triplo quadrupolo posizionato in una camera bianca ISO 6 riduce significativamente i LOD di ciascun elemento analizzato. Questo permette di quantificare valori anche molto bassi o vicini al LOD, soprattutto delle REE, che possono essere ottimi marker per l'identificazione dell'impronta digitale dei cibi.

Con la metodologia proposta, sono stati ottenuti buoni risultati nell'analisi di diversi campioni di olio EVO campionati in diverse aree italiane e non, sia per l'analisi multielemento che per l'analisi delle REE. Sia gli elementi in traccia che quelli ultra-traccia mostrano cambiamenti tra i campioni analizzati.

Infine, con i dati ottenuti dall'analisi in traccia (ppb) e ultra-traccia (ppt), è stata condotta un'analisi statistica PCA per evidenziare eventuali relazioni tra campioni di olio EVO provenienti da aree diverse, in base alla presenza di markers specifici.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	25	39

Bibliografia

Aceto, M. (2016). The Use of ICP-MS in Food Traceability. *Advances in Food Traceability Techniques and Technologies*, 137-164. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100310-7.00008-9>

Aceto, M., Bonello, F., Musso, D., Tsolakis, C., Cassino, C., & Osella, D. (2018). Wine Traceability with Rare Earth Elements. *Beverages*, 4, 23. <https://doi.org/10.3390/beverages4010023>

Aceto, M., Calà, E., Musso, D., Regalli, N., & Oddone, M. (2019). A preliminary study on the authentication and traceability of extra virgin olive oil made from Taggiasca olives by means of trace and ultra-trace elements distribution. *Food Chemistry*, 298, 125047. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125047>

Ala-Hulkko, T., Kotavaara, O., Alahuhta, J., & Hjort, J. (2019). Mapping supply and demand of a provisioning ecosystem service across Europe. *Ecological Indicators*, 103, 520-529. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.04.049>

Ameen, N., Amjad, M., Murtaza, B., Abbas, G., Shahid, M., Imran, M., Naeem, M. A., & Niazi, N. K. (2019). Biogeochemical behavior of nickel under different abiotic stresses: toxicity and detoxification mechanisms in plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 10496-10514. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04540-4>

Astolfi, M. L., Marconi, E., Vitiello, G., & Massimi, L. (2021). An optimized method for sample preparation and elemental analysis of extra-virgin olive oil by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry*, 360, 130027. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130027>

Balaram, V. (2019). Rare earth elements: A review of applications, occurrence, exploration, analysis, recycling, and environmental impact. *Geoscience Frontiers*, 10, 1285-1303. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2018.12.005>

Balcaen, L., Bolea-Fernandez, E., Resano, M., & Vanhaecke, F. (2015). Inductively Coupled Plasma-Tandem mass spectrometry (ICP-MS/MS): A powerful and universal tool for the interference-free determination of (ultra)trace elements-A tutorial review. *Analytica Chimica Acta*, 894, 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.08.053>

Bandoniene, D., Walkner, C., Zettl, D., & Meisel, T. (2018). Rare Earth Element Labeling as a Tool for Assuring the Origin of Eggs and Poultry Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 11729-11738. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03828>

Barros, J. A. V. A., Virgilio, A., Schiavo, D., & Nóbrega, J. A. (2017). Determination of ultra-trace levels of Mo in plants by inductively coupled plasma tandem mass spectrometry (ICP-MS/MS). *Microchemical Journal*, 133, 567-571. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.04.037>

Beltrán, M., Sánchez-Astudillo, M., Aparicio, R., & García-González, D. L. (2015). Geographical traceability of virgin olive oils from south-western Spain by their multi-elemental composition. *Food Chemistry*, 169, 350-357. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.104>

Benincasa, C., Lewis, J., Perri, E., Sindona, G., & Tagarelli, A. (2007). Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta*, 585, 366-370. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.12.040>

Benincasa, C., Gharsallaoui, M., Perri, E., Bati, C. B., Ayadi, M., Khlif, M., & Gabsi, S. (2012). Quality and trace element profile of Tunisian olive oils obtained from plants irrigated with treated wastewater. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-11. <https://doi.org/10.1100/2012/535781>

Bhandari, M. P., Carmona, E. N., Abbatangelo, M., Sberveglieri, V., Duina, G., Malla, R., Comini, E., & Sberveglieri, G. (2018). Discrimination of Quality and Geographical Origin of Extra Virgin Olive Oil by S3 Device with Metal Oxides Gas Sensors. *Proceedings*, 2, 1061. <https://doi.org/10.3390/proceedings2131061>

Bronzi, B., Brilli, C., Beone, G. Gm., Fontanella, M. C., Ballabio, D., Todeschi, R., Consonni, V., Grisoni, F., Parri, F., & Buscema, M. (2020). Geographical identification of Chianti red wine based on ICP-MS element composition. *Food Chemistry*, 315, 126248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126248>

Cabrera-Vique, C., Bouzas, P. R., & Oliveras-Lopez, M. J. (2012). Determination of trace elements in extra virgin olive oils: A pilot study on the geographical characterisation. *Food Chemistry*, 134, 434-439. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.088>

Camin, F., Larcher, R., Nicolini, G., Bontempo, L., Bertoldi, D., Perini, M., Schlicht, C., Schellenberg, A., Thomas, F., Heinrich, K., Voerkelius, S., Horacek, M., Ueckermann, H., Froeschi, H., Wimmer, B., Heiss, G., Baxter, M., Rossmann, A., & Hoogewerff, J. (2010a), Isotopic and Elemental Data for Tracing the Origin of European Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 570-577. <https://doi.org/10.1021/jf902814s>

Camin, F., Larcher, R., Perini, M., Bontempo, L., Bertoldi, D., Gagliano, G., Nicolini, G., & Versini, G. (2010b). Characterisation of authentic Italian extra-virgin olive oils by stable isotope ratios of C, O and H and mineral composition. *Food Chemistry*, 118, 901-909. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.059>

Corveira, C., Hermann, P. R. S., Pereira, J. S. F., Pozebon, D., Mesko, M. F., & Moraes, D. P. (2020). Evaluation of microwave-assisted ultraviolet digestion method for rice and wheat for subsequent spectrometric determination of As, Cd, Hg and Pb. *Journal of Food Composition and Analysis*, 92, 103585. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103585>

Chammem, N., Issaoui, M., Dâmaso De Almeida, A. I., & Martins Delgado, A. (2018). Food Crises and Food Safety Incidents in European Union, United States, and Maghreb Area: Current Risk Communication Strategies and New Approaches. *Journal of AOAC International*, 101, 923-938. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0446>

Codex Alimentarius Commission (2001) Report of the 33rd session of the codex committee on food additives and contaminants. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization.

Cortés, V., Blasco, J., Aleixos, N., Cubero, S., & Talens, P. (2019). Monitoring strategies for quality control of agricultural products using visible and near-infrared spectroscopy: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 85, 138-148. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.015>

Damak, F., Asano, M., Baba, K., Suda, A., Araoka, D., Wali, A., Isoda, H., Nakajima, M., Ksibi, M., & Tamura, K. (2019). Interregional traceability of Tunisian olive oils to the provenance soil by multielemental fingerprinting and chemometrics. *Food Chemistry*, 283, 656-664. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.082>

de Lima, N. V., de Pádua Melo, E. S., Arakaki, D. G., Saldanha Tschinkel, P. F., de Souza, I. D., de Oliveira Ulbrecht, M. O., Mendes dos Reis, F. J., Rosa, A. C. G., Rosa, R. H., & Aragão do Nascimento, V. (2021). Data on metals, nonmetal, and metalloid in the samples of the canned tuna and canned sardines sold in Brazil. *Data in Brief*, 35, 106865. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.106865>

Dharma-Wardana, M. W. C. (2018). Fertilizer usage and cadmium in soils, crops and food. *Environmental Geochemistry and Health*, 40, 2739-2759. <https://doi.org/10.1007/s10653-018-0140-x>

Dong, Y., Lin, H., Zhao, Y., & Menzembere, E. R. G. Y. (2021). Remediation of vanadium-contaminated soils by the combination of natural clay mineral and humic acid. *Journal of Cleaner Production*, 279, 123874. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123874>

Drivelos, S. A., & Georgiou, C. A. (2012). Multi-element and multi-isotope-ratio analysis to determine the geographical origin of food in the European Union. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 40, 38-51. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.08.003>

Drivelos, S. A., Danezis, G. P., Haroutounian, S. A., & Georgiou, C. A. (2016). Rare earth elements minimal harvest year variation facilitates robust geographical origin discrimination: The case of PDO “Fava Santorinis”. *Food Chemistry*, 213, 238-245. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.088>

El-Bahi, S. M., Sroor, A., Mohamed, G. Y., & El-Gendy, N. S. (2017). Radiological impact of natural radioactivity in Egyptian phosphate rocks, phosphogypsum and phosphate fertilizers. *Applied Radiation and Isotopes*, 123, 121-127. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2017.02.031>

El-Sherbiny, H. M. M., & Sallam, K. I. (2021). Residual contents and health risk assessment of mercury, lead and cadmium in sardine and mackerel from the Mediterranean Sea Coast, Egypt. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96, 103749. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103749>

European Commission (2020). Quality Schemes explained. https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained_en

European Food Safety Authority (2014). Dietary exposure to inorganic arsenic in European population. *EFSA Journal*, 12, 3597. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3597>

Farmaki, E. G., Thomaidis, N. S., Minioti, K. S., Ioannou, E., Georgiou, C. A., & Efstathiou, C. E. (2012). Geographical Characterization of Greek Olive Oils Using Rare Earth Elements Content and Supervised Chemometric Techniques. *Analytical Letters*, 45, 920-932. <https://doi.org/10.1080/00032719.2012.655656>

Fernández-Calderón, M. C., Navarro-Pérez, M. L., Blanco-Roca, M. T., Gómez-Navia, C., Pérez-Giraldo, C., & Vadillo-Rodríguez, V. (2020). Chemical Profile and Antibacterial Activity of a Novel Spanish Propolis with New Polyphenols also Found in Olive Oil and High Amounts of Flavonoids. *Molecules*, 25, 3318. <https://doi.org/10.3390/molecules25153318>

Fung, F., Wang, H. S., & Menon, S. (2018). Food safety in the 21st century. *Biomedical Journal*, 25, 3318. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.03.003>

Garcia-Bellido, J., Freije-Carreló, L., Moldovan, M., & Encinar, J. R. (2020). Recent Advances in GC-ICP-MS: Focus on the current and future impact of MS/MS technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 130, 115963. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115963>

Gharbi, I., & Hammami, M. (2019). Olive (*Olea europea* L.) Oil. In: Ramadan M. (eds.) *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-12473-1_20

Ghane, E. T., Poormohammadi, A., Khazaei, S., & Mehri, F. (2022). Concentration of Potentially Toxic Elements in Vegetable Oils and Health Risk Assessment: a Systematic Review and Meta-analysis. *Biological Trace Element Research*, 200, 437-446. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02645-x>

Giuliani, A. (2017). The application of principal component analysis to drug discovery and biomedical data. *Drug Discovery Today*, 22, 1069-1076. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.01.005>

Gouvinhas, I., Dominguez-Perles, R., Machado, N., Carvalho, T., Matos, C., & Barros, A. I. R. N. A. (2016). Effect of agro-environmental factors on the mineral content of olive oils: Categorization of the three major portuguese cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93, 813-822. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2827-4>

Granato, D., Santos, J. S., Escher, G. B., Ferreira, B. L., & Maggio, R. M. (2018), Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.006>

Green, H. S., Li, X., De Pra, M., Lovejoy, K. S., Steiner, F., Acworth, I. N., & Wang, S. C. (2020). A rapid method for the detection of extra virgin olive oil adulteration using UHPLC-CAD profiling of triacylglycerols and PCA. *Food Control*, 107, 106773. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106773>

Holler, J. F., Skoog, D. A., Crouch, S. R. (2009). *Principles of Instrumental Analysis*.

Hussain, S., Khaliq, A., Noor, M. A., Tanveer, M., Hussain, H. A., Hussain, S., Shah, T., & Mehmood, T. (2020). Metal Toxicity and Nitrogen Metabolism in Plants: An Overview. In: Datta R., Meena R., Pathan S., Ceccherini M. (eds) Carbon and Nitrogen Cycling in Soil. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7264-3_7

International Olive Council (2009). Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils. COI/T.15/NC No. 3/Rev.

Jacob, M., Lopata, A. L., Dasouki, M., & Abdel Rahman, A. M. (2019). Metabolomics toward personalized medicine. *Mass Spectrometry Reviews*, 38, 221-238. <https://doi.org/10.1002/mas.21548>

Kabaran, S., Gulec, A., & Besler, H. T. (2020). Is there any potential health risk of heavy metals through dietary intake of olive oil that produced in Morphou, Cyprus. *Progress in Nutrition*, 22, e2020018. <https://doi.org/10.23751/pn.v22i3.8098>

Karabagias, I., Michos, C., Badeka, A., Kontakos, C., Stratis, I., & Kontominas, M. G. (2013). Classification of Western Greek virgin olive oils according to geographical origin based on chromatographic, spectroscopic, conventional and chemometric analyses. *Food Research International*, 54, 1950-1958. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.023>

Keceli, T., & Gordon, M. H. (2001). The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1391-1396. <https://doi.org/10.1002/jsfa.959>

La Pera, L., Lo Curto, S., Visco, A., La Torre, L., & Dugo, G. (2002). Derivative Potentiometric Stripping Analysis (dPSA) Used for the Determination of Cadmium, Copper, Lead, and Zinc in Sicilian Olive Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3090-3093. <https://doi.org/10.1021/jf0113124>


Ladwein, R., & Sánchez Romero, A. M. (2021). The role of trust in the relationship between consumers, producers and retailers of organic food: A sector-based approach. *Journal of Retailing and Consumer Services*, 60, 102508. <https://doi.org/10.1016/j.jretconser.2021.102508>

Leśniewska, B., & Godlewska-Żyłkiewicz, B. (2019). Speciation of Chromium in Alkaline Soil Extracts by an Ion-Pair Reversed Phase HPLC-ICP MS Method. *Molecules*, 24, 1172. <https://doi.org/10.1016/j.jretconser.2021.102508>

Letsoalo, M. R., Mamo, M. A., & Ambushe, A. A. (2021). Simultaneous quantitative speciation of selected toxic elements in water using high performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma-mass spectrometry (HPLC-ICP-MS). *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 124, 103011. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2021.103011>

Lever, J., Krzywinski, M., & Altman, N. (2017). Points of significance: Principal component analysis. *Nature Methods*, 14, 641-642. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4346>

Li, C., Zhou, K., Qin, W., Tian, C., Qi, M., & Yan, X. (2019). A review on heavy metal contamination in soil: Effects, Sources and Remediation techniques. *Soil and Sediment*

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	30	39

Contamination: An International Journal, 28, 380-394.
<https://doi.org/10.1080/15320383.2019.1592108>

Li, Y., Zhang, B., Liu, Z., Wang, S., Yoa, J., & Borthwick, A. G. L. (2020). Vanadium contamination and associated health risk of farmland soil near smelters throughout China. *Environmental Pollution*, 263, 114540. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114540>

Liu, B., He, Z., Liu, R., Montenegro, A. C., Ellis, M., Li, Q., & Baligar, V. C. (2021). Comparative effectiveness of activated dolomite phosphate rock and biochar for immobilizing cadmium and lead in soils. *Chemosphere*, 266, 129202. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129202>

Liu, Z., Zhang, W., Zhang, Y., Chen, T., Shao, S., Zhou, L., Yuan, Y., Xie, T., & Rogers, K. M. (2019). Assuring food safety and traceability of polished rice from different production regions in China and Southeast Asia using chemometric models. *Food Control*, 99, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.011>

Llorent-Martinez, E. J., Ortega-Barrales, P., Fernandez-de Cordova, M. L., Dominguez-Vidal, A., & Ruiz-Medina, A. (2011). Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain. *Food Chemistry*, 127, 1257-1262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.064>

Luka, M. F., & Akun, E. (2019). Investigation of trace metals in different varieties of olive oils from Northern Cyprus and their variation in accumulation using ICP-MS and multivariate techniques. *Environmental Earth Sciences*, 78, 578. <https://doi.org/10.1007/s12665-019-8581-9>

Magnusson, O. (2014). Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Eurachem Guide.

Malik, M. R., Isaac, B. J., Coussement, A., Smith, P. J., & Parente, A. (2018). Principal component analysis coupled with nonlinear regression for chemistry reduction. *Combustion and Flame*, 187, 30-41. <https://doi.org/10.1016/j.combustflame.2017.08.012>

Mancini, M. C., Menozzi, D., Donati, M., Biasini, B., Veneziani, M., & Arfini, F. (2019). Producers' and Consumers' Perception of the Sustainability of Short Food Supply Chains: The Case of Parmigiano Reggiano PDO. *Sustainability*, 11, 721. <https://doi.org/10.3390/su11030721>

Manjusha, R., Shekhar, R., & Kumar, S. J. (2019). Ultrasound-assisted extraction of Pb, Cd, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn from edible oils with tetramethylammonium hydroxide and EDTA followed by determination using graphite furnace atomic absorption spectrometer. *Food Chemistry*, 294, 384-389. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.104>

Markiewicz-Keszycka, M., Cama-Moncunill, X., Casado-Gavaldà, M. P., Dixit, Y., Cama-Moncunill, R., Cullen, J., & Sullivan, C. (2017). Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) for food analysis: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 65, 80-93. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.005>

Martínez, L., Ros, G., & Nieto, G. (2018). Fe, Zn and Se Bioavailability in Chicken Meat Emulsions Enriched with Minerals, Hydroxytyrosol and Extra Virgin Olive Oil as Measured by Caco-2 Cell Model. *Nutrients*, *10*, 969. <https://doi.org/10.3390/nu10080969>

Mendil, D., Ozgur, D. U., & Mustafa, S. (2009). Investigation of the levels of some element in edible oil samples produced in Turkey by atomic absorption spectrometry. *Journal of Hazardous Materials*, *165*, 724-728. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.10.046>

Mirón, C., Sánchez, R., Prats, S., & Todolí, J. L. (2020). Total polyphenol content and metals determination in Spanish virgin olive oils by means of a dispersive liquid-liquid aerosol phase extraction method and ICP-MS. *Analytica Chimica Acta*, *1094*, 34-46. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.10.009>

Mng'ong'o, M., Munishi, L. K., Ndakidemi, P. A., Blake, W., Comber, S., & Hutchinson, T. H. (2021). Toxic metals in East African agro-ecosystems: Key risks for sustainable food production. *Journal of Environmental Management*, *294*, 112973. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112973>

Nardi, A., Mincarelli, L. F., Benedetti, M., Fattorini, D., d'Errico, G., & Regoli, F. (2017). Indirect effects of climate changes on cadmium bioavailability and biological effects in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, *169*, 493-502. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.093>

Nazzaro, F., Fratianni, F., Cozzolino, R., Martignetti, A., Malorni, L., De Feo, V., Cruz, A. G., & d'Acierno, A. (2019). Antibacterial Activity of Three Extra Virgin Olive Oils of the Campania Region, Southern Italy, Related to Their Polyphenol Content and Composition. *Microorganisms*, *7*, 321. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090321>


Osman, M. A., Yang, F., & Massey, I. Y. (2019). Exposure routes and health effects of heavy metals on children. *Biometals*, *32*, 563-573. <https://doi.org/10.1007/s10534-019-00193-5>

Petrosyan, V., Pirumyan, G., & Perikhanyan, Y. (2018). Determination of heavy metal background concentration in bottom sediment and risk assessment of sediment pollution by heavy metals in the Hrazdan River (Armenia). *Applied Water Science*, *9*, 102. <https://doi.org/10.1007/s13201-019-0996-7>

Popović, B. M., Blagojević, B., Ždero Pavlović, R., Mičić, N., Bijelić, S., Bogdanović, B., Mišan, A., Duarte, C. M. M., & Serra, A. T. (2020). Comparison between polyphenol profile and bioactive response in blackthorn (*Prunus spinosa* L.) genotypes from north Serbia-from raw data to PCA analysis. *Food Chemistry*, *302*, 125373. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125373>

Prandi, B., Lambertini, F., Faccini, A., Suman, M., Leporati, A., Tedeschi, T., & Sforza, S. (2017). Mass spectrometry quantification of beef and pork meat in highly processed food: Application on Bolognese sauce. *Food Control*, *74*, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.032>

Qin, J., Su, Z., Mao, Y., Liu, C., Qi, B., Fang, G., & Wang, S. (2021). Carboxyl-functionalized hollow polymer microspheres for detection of trace metal elements in complex food matrixes

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	32	39

by ICP-MS assisted with solid-phase extraction. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111729. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111729>

Rajput, S., & Singh, S. P. (2019). Connecting circular economy and industry 4.0. *International Journal of Information Management*, 49, 98-113. <https://doi.org/10.1016/j.ijinfomgt.2019.03.002>

Rizzo, A., & Telloli, C. (2019). Analytical techniques for a rapid determination of nitrogen content in Extra Virgin Olive Oil. *Journal of Agronomy and Agricultural Science*, 1, 1-5. <https://doi.org/10.24966/AAS-8292/100005>

Rongai, D., Sabatini, N., Del Coco, L., Perri, E., Del Re, P., Simone, N., Marchegiani, D., & Fanizzi, F. P. (2017). 1H NMR and Multivariate Analysis for Geographic Characterization of Commercial Extra Virgin Olive Oil: A Possible Correlation with Climate Data. *Foods*, 6, 96. <https://doi.org/10.3390/foods6110096>

Savio, M., Ortiz, M. S., Almeida, C. A., Olsina, R. A., Martinez, L. D., & Gil, R. A. (2014). Multielemental analysis in vegetable edible oils by inductively coupled plasma mass spectrometry after solubilisation with tetramethylammonium hydroxide. *Food Chemistry*, 159, 433-438. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.041>

Sayago, A., González-Domínguez, R., Beltrán, R., & Fernández-Recamales, A. (2018). Combination of complementary data mining methods for geographical characterization of extra virgin olive oils based on mineral composition. *Food Chemistry*, 261, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.019>


Schaefer, H. R., Dennis, S., & Fitzpatrick, S. (2020). Cadmium: Mitigation strategies to reduce dietary exposure. *Journal of Food Science*, 85, 260-267. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14997>

Schlesinger, W. H., Klein, E. M., & Vengosh, A. (2017). Global biogeochemical cycle of Vanadium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114, E11092-E11100. <https://doi.org/10.1073/pnas.1715500114>

Sidey-Gibbons, J., & Sidey-Gibbons, C. (2019). Machine learning in medicine: a practical introduction. *BMC Medical Research Methodology*, 19, 64. <https://doi.org/10.1186/s12874-019-0681-4>

Speedwave Four Manual (2021). Microwave digestion system with built-in, Non-contact temperature and pressure measurement. V. 1.0 User Manual. Berghof. <https://manualzz.com/doc/4197411/v.-1.0-user-manual-microwave-digestion-system-with-built> (Available online on June, 30 2021)

Squadrone, S., Brizio, P., Stella, C., Mantia, M., Pederiva, S., Brusa, F., Mogliotti, P., Garrone, A., & Abete, M. C. (2020). Trace elements and rare earth elements in honeys from the Balkans, Kazakhstan, Italy, South America, and Tanzania. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 12646-12657. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07792-7>

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	33	39

Stanisz, E., & Krawczyk-Coda, M. (2017). ZnO nanoparticles as an adsorbent in ultrasound-assisted dispersive micro solid-phase extraction combined with high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry for determination of trace germanium in food samples. *Microchemical Journal*, 132, 136-142. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.01.018>

Sugiyama, N., & Woods, G. (2012). Direct measurement of trace rare earth elements (REEs) in high-purity REE oxide using the Agilent 8800 Triple Quadrupole ICP-MS with MS/MS mode. Agilent Technologies.

Taghizadeh, S. F., Rezaee, R., Boskabady, M., Sardoo, H. M., & Karimi, G. (2020). Exploring the carcinogenic and non-carcinogenic risk of chemicals present in vegetable oils. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1803848>

Taghizadeh, S. F., Azizi, M., Rezaee, R., Giesy, J. P., & Karimi, G. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons, pesticides, and metals in olive: analysis and probabilistic risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 39723-39741. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13348-0>

Telloli, C., Tagliavini, S., Passarini, F., Salvi, S., Rizzo, A. (2022). ICP-MS Triple Quadrupole as analytical technique to define trace and ultra-trace fingerprint of extra virgin olive oil. *Food Chemistry*, 402, 134247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134247>

Ulrich, A. E. (2019). Cadmium governance in Europe's phosphate fertilizers: Not so fast? *Science of the Total Environment*, 650, 541-545. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.014>


Wali, A., Damak, F., Kawada, K., Isoda, H., Tamura, K., & Ksibi, M. (2021). The effects of geographic region and cultivar on oxidative stability and elemental analysis of Tunisian extra virgin olive oil. *European Food Research and Technology*, 650, 541-545. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03717-x>

Wan, Z., Gong, M., & Jiang, F. (2019). An Estimation Framework for Economic Cost of Land Use Based on Artificial Neural Networks and Principal Component Analysis with R. *IEEE 3rd Advanced Information Management, Communicates, Electronic and Automation Control Conference (IMCEC)*, 204-209. <https://doi.org/10.1109/IMCEC46724.2019.8984158>

Xiuhan, G., Rui, C., Shisheng, W., Bo, T., Yueqing, L., & Weijie, Z. (2018). Non-destructive geographical traceability of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) using near infrared spectroscopy combined with chemometric methods. *Royal Society Open Science*, 5, 170714. <https://doi.org/10.1098/rsos.170714>

Yamada, N. (2015). Kinetic energy discrimination in collision/reaction cell ICP-MS: Theoretical review of principle and limitations. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 110, 31-44. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2015.05.008>

Yamada, T., & Yamada, N. (2002). Operating Principles of the Agilent Octopole Reaction Cell. *Agilent ICP-MS Journal*.

 Ricerca Sistema Elettrico	Sigla di identificazione	Rev.	Distrib.	Pag.	di
	SICNUC – P000 – 052	0	L	34	39

Yang, W., Si, Y., Wang, D., & Guo, B. (2018). Automatic recognition of arrhythmia based on principal component analysis network and linear support vector machine. *Computers in Biology and Medicine*, 101, 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2018.08.003>

Yassin, A. A., Ghandour, M. A., & Khalil, M. M. (2021). Health risk assessment and micro determination of trace elements content in Egyptian olive oil using ICP-OES. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 101, 22-32.

Yuan, Y. Y., Wang, S. T., Wang, J. Z., Cheng, Q., Wu, X. J., & Kong, D. M. (2020). Rapid detection of the authenticity and adulteration of sesame oil using excitation-emission matrix fluorescence and chemometric methods. *Food Control*, 112, 107145. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107145>

Zeiner, M., Juranovic-Cindric, I., & Škevin, D. (2010). Characterization of extra virgin olive oils derived from the Croatian cultivar Oblica. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 1248-1252. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000006>

Zheng, G., Wang, X., Chen, T., Yang, J., Yang, J., Liu, J., & Shi, X. (2020). Passivation of lead and cadmium and increase of the nutrient content during sewage sludge composting by phosphate amendments. *Environmental Research*, 185, 109431. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109431>

Ziarati, P., Mirmohammad Makki, F., Vambol, S., & Vambol, V. (2019). Determination of Toxic Metals Content in Iranian and Italian Flavoured Olive Oil. *Acta Technologica Agriculturae*, 2, 64-69. <https://doi.org/10.2478/ata-2019-0012>

Tabella 1. Limit of Detection (LOD) e Limit of Quantification (LOQ) di strumento e di processo per analisi in traccia multielemento, espresso in ppb; linearità della curva esterna di calibrazione; accuratezza determinate con lo standard SRM-1573A; ripetibilità e riproducibilità. Il simbolo * rappresenta quelli elementi che sono stati diluiti 1:25; il simbolo ° rappresenta quegli elementi che sono stati diluiti 1:100.

Elemento	Strumento		Processo		Linearità		Accuratezza		Repetibilità		Riproducibilità (ppb)					
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	Modalità	R2	Recovery (%)	RSD (%)	Concentrazione media (ppb)	RSD (%)	Giorno 1	RSD (%)	Giorno 2	RSD (%)	Giorno 3	RSD (%)
⁹ Be*	0.006	0.020	0.004	0.0152	No Gas	1.000	86.1	3.9	13.726	0.067	16.288	0.5	16.036	1.0	16.304	0.1
¹¹ B	0.208	0.693	0.145	0.483	No Gas	0.9996	92.3	1.3	15.010	0.732	16.147	1.0	17.107	0.9	16.189	1.4
²³ Na	0.012	0.052	0.281	0.935	No Gas	0.9997	87.5	1.4	17.153	0.778	16.220	0.9	19.190	0.7	16.807	1.0
²⁴ Mg°	0.122	0.407	0.133	0.443	He	0.9999	106.2	2.3	38.924	0.217	56.856	4.2	52.628	0.3	55.579	2.5
²⁷ Al	2.170	7.232	0.875	2.918	No Gas	0.9999	90.2	3.9	28.468	0.616	22.024	0.8	23.041	5.4	28.903	2.0
³¹ P	1.520	5.065	1.440	4.796	No Gas	0.9998	98.7	5.7	44.122	0.009	53.490	0.7	53.911	1.5	54.720	0.7
³⁹ K°	0.730	2.432	1.370	4.566	No Gas	0.9998	114.3	0.3	93.789	0.225	161.800	1.1	126.999	1.4	134.759	1.4
⁴⁴ Ca°	0.819	2.730	1.192	3.976	He	0.9995	77.2	1.7	28.750	0.717	43.159	6.1	35.685	2.9	40.391	4.3
⁵¹ V*	0.213	0.710	0.144	0.479	No Gas	0.9999	95.5	1.3	15.194	0.122	17.741	2.1	16.967	1.1	17.520	1.2
⁵² Cr*	0.049	0.162	0.061	0.203	No Gas	0.9998	93.2	1.3	14.865	0.059	17.202	0.3	16.878	1.3	17.040	0.1
⁵⁵ Mn	0.018	0.061	0.009	0.029	No Gas	0.9999	109.3	1.2	18.048	0.066	20.922	0.5	20.667	1.2	21.017	0.6
⁵⁶ Fe	0.520	1.730	0.460	1.533	No Gas	0.9995	110.6	3.1	21.994	0.217	24.514	1.8	23.625	1.3	24.938	0.5
⁵⁹ Co	0.001	0.003	0.004	0.015	No Gas	0.9999	91.3	6.0	14.685	0.030	16.966	0.3	16.574	0.1	16.772	1.3
⁶⁰ Ni*	0.040	0.130	0.164	0.550	He	0.9999	93.9	1.5	14.962	0.093	17.444	1.5	16.423	3.0	17.457	1.5
⁶³ Cu*	0.012	0.041	0.070	0.232	No Gas	0.9997	89.4	1.0	14.295	0.008	16.607	0.4	16.231	0.6	16.547	0.4
⁶⁶ Zn*	0.392	1.310	0.300	0.993	He	0.9999	62.6	4.6	9.771	0.346	15.809	0.6	15.284	4.6	15.629	3.4
⁶⁹ Ga*	0.005	0.015	0.044	0.148	He	0.9999	94.0	1.5	15.021	0.037	16.838	1.5	16.980	1.6	17.360	2.0
⁷⁵ As*	0.100	0.332	0.427	1.423	He	0.9999	92.0	2.9	14.674	0.075	16.459	4.6	15.790	2.7	16.169	1.0
⁷⁸ Se*	0.338	1.126	0.173	0.575	No Gas	0.9999	82.9	4.9	13.172	0.134	15.538	2.6	16.191	3.1	15.397	3.7
⁸⁵ Rb	0.019	0.065	0.035	0.120	He	1.0000	104.9	3.8	14.875	0.093	17.191	1.0	16.767	0.5	16.994	2.9
⁸⁸ Sr	0.029	0.098	0.073	0.244	He	0.9999	106.9	1.0	15.674	0.160	18.241	2.1	18.441	1.4	18.328	0.2



¹⁰⁷ Ag*	0.001	0.005	0.002	0.008	No Gas	0.9998	61.7	0.6	9.869	0.001	16.608	0.5	16.214	0.7	16.517	0.6
¹¹¹ Cd	0.040	0.129	0.025	0.082	He	1.0000	81.0	3.3	14.497	0.123	16.350	1.6	16.718	2.2	16.821	3.4
¹³³ Cs*	0.004	0.015	0.002	0.008	No Gas	0.9999	93.1	1.3	14.850	0.074	17.050	1.1	16.751	0.2	16.999	0.9
¹³⁷ Ba	0.109	0.365	0.160	0.526	He	0.9998	98.8	0.5	15.205	0.127	17.837	3.9	18.407	3.3	17.749	3.3
²⁰⁵ Tl	0.002	0.006	0.002	0.005	No Gas	0.9998	85.6	0.7	13.682	0.030	15.728	0.8	15.482	0.2	15.736	0.7
²⁰⁸ Pb*	0.028	0.094	0.062	0.208	No Gas	0.9998	86.5	1.8	13.772	0.088	15.942	1.0	15.650	0.5	15.773	0.2
²³² Th*	0.025	0.083	0.030	0.098	No Gas	1.0000	88.5	0.5	14.085	0.099	16.189	0.9	15.935	0.7	16.108	0.7
²³⁸ U*	0.001	0.004	0.002	0.005	No Gas	1.0000	88.5	0.7	13.888	0.033	17.037	1.9	16.404	3.5	16.096	1.4

Tabella 2. Limit of Detection (LOD) e Limit of Quantification (LOQ) di strumento e di processo per analisi in ultra-traccia delle REE, espresso in ppt (n.d. significa sotto al limite di rilevabilità); linearità della curva esterna di calibrazione; accuratezza determinate con lo standard SRM-1573A; ripetibilità e riproducibilità.

Elemento	Strumento		Processo		Linearità		Accuratezza		Ripetibilità		Riproducibilità (ppt)					
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	Modalità	R2	Recovery (%)	RSD (%)	Concentrazione media (ppt)	RSD (%)	Giorno 1	RSD (%)	Giorno 2	RSD (%)	Giorno 3	RSD (%)
¹³⁹ La	0.042	0.140	0.136	0.454	O ₂	0.9999	104.3	1.7	42.303	1.7	42.069	2.1	41.475	2.2	41.705	1.7
¹⁴⁰ Ce	0.042	0.141	0.093	0.311	O ₂	0.9999	100.7	2.6	41.646	2.5	41.444	2.8	40.785	2.7	40.291	2.6
¹⁴¹ Pr	0.041	0.138	0.105	0.350	O ₂	1.0000	105.7	2.3	42.786	1.6	42.689	0.6	41.958	2.1	42.302	2.3
¹⁴⁶ Nd	0.170	0.568	0.469	1.565	O ₂	0.9999	106.2	1.9	43.096	1.8	42.852	3.7	42.063	2.4	42.508	1.9
¹⁴⁷ Sm	0.107	0.356	0.207	0.690	O ₂	1.0000	103.9	2.7	42.583	2.3	42.860	2.5	41.512	1.5	41.544	2.7
¹⁵³ Eu	0.017	0.057	0.032	0.107	No Gas	1.0000	106.9	0.3	43.238	2.0	43.599	0.5	42.055	2.2	42.776	0.3
¹⁵⁷ Gd	0.068	0.228	0.017	0.057	O ₂	1.0000	105.1	3.0	42.340	1.3	43.235	2.5	41.690	0.6	42.054	3.0
¹⁵⁹ Tb	0.067	0.225	0.119	0.396	No Gas	0.9998	106.2	7.4	41.926	2.0	42.645	7.0	41.644	1.3	42.494	7.1
¹⁶³ Dy	0.021	0.071	0.066	0.220	O ₂	1.0000	106.2	2.9	43.241	1.7	42.748	2.1	42.673	1.7	42.483	2.9
¹⁶⁵ Ho	0.036	0.012	0.011	0.037	O ₂	1.0000	105.9	3.2	42.950	1.6	43.253	0.8	42.131	2.0	42.355	3.2
¹⁶⁶ Er	0.061	0.202	0.068	0.228	O ₂	1.0000	106.9	1.6	42.816	2.0	42.294	2.4	41.403	1.7	42.759	1.6
¹⁶⁹ Tm	0.019	0.062	n.d.	n.d.	O ₂	1.0000	106.4	1.0	43.046	1.7	43.187	0.4	41.900	2.0	43.383	0.9
¹⁷² Yb	0.049	0.164	0.021	0.070	No Gas	1.0000	105.6	0.5	43.004	1.3	43.501	1.1	42.854	1.1	42.039	0.9
¹⁷⁵ Lu	0.013	0.045	0.650	2.166	O ₂	1.0000	106.4	1.1	43.258	2.0	43.431	1.6	42.267	1.9	42.457	1.1

Tabella 3. Concentrazione di metalli tossici nei diversi campioni di olio EVO analizzati in ICP-MS-QQQ, espressi in ppb.

Campione	Ni	As	Cu	Fe	Cd	Pb
Albania 2014	0.140 x10	0.050	0.493	0.179 x 10 ²	0.017	0.442
Albania 2015	0.217	0.127	0.277	0.158 x 10 ²	0.000	0.006
Toscana 2013	0.305	0.023	0.467	0.153 x 10 ²	0.006	0.220
Toscana 2014	0.251 x 10	0.009	0.375	0.395 x 10 ²	0.002	0.468
Marche 2015	0.127 x 10	0.077	0.594	0.197 x 10 ²	0.026	0.772
Liguria 2018	0.410	0.135	0.000	0.168 x 10 ²	0.002	0.047
Abruzzo 2017	0.289 x10 ²	0.082	0.445	0.111 x 10 ³	0.004	0.180
Calabria 2015a	0.281 x 10	0.009	0.519	0.526 x 10 ²	0.132	0.166 x 10
Calabria 2015b	0.563	0.000	0.457	0.148 x 10 ²	0.051	0.618
Calabria 2015c	0.640	0.000	0.124	0.134 x 10 ²	0.000	0.023
Campania 2015a	0.109 x 10	0.027	0.118	0.170 x 10 ²	0.004	0.066
Campania 2015b	0.618 x 10	0.014	0.396	0.582 x 10 ²	0.021	0.668
Campania 2017	0.885	0.431	0.353	0.145 x 10 ²	0.308	0.435
Sardegna 2016	0.300	0.000	0.121	0.134 x 10 ²	0.000	0.044
Puglia 2013a	0.327 x 10	0.032	0.456	0.206 x 10 ²	0.009	0.382
Puglia 2013b	0.538	0.045	0.536	0.173 x 10 ²	0.006	0.207
Puglia 2013c	0.174 x 10	0.073	0.222	0.248 x 10 ²	0.004	0.130
Puglia 2014	0.350 x 10	0.023	0.238	0.233 x 10 ²	0.000	0.522
Puglia 2016	0.233 x 10	0.005	0.529	0.414 x 10 ²	0.049	0.147 x 10
Puglia 2018a	0.420 x 10	0.023	0.579	0.782 x 10 ²	0.011	0.367
Puglia 2018b	0.359	0.200	0.159	0.125 x 10 ²	0.132	0.129
Coop FIORE 2013	0.105 x 10	0.054	0.118 x 10	0.302 x 10 ²	0.011	0.231
Coop FIORE 2014	0.487	0.049	0.000	0.123 x 10 ²	0.002	0.032
Coop Costanza	0.156	0.077	0.000	0.126 x 10 ²	0.004	0.031

Tabella 4. Autovalore, variabilità e varianza cumulative (queste ultime due espresse in percentuale) dei dati ottenuti in ICP-MS-QQQ dei campioni di olio EVO analizzati.

Componente principale	Autovalore	Variabilità (%)	Varianza cumulativa (%)
PC1	15.004	36.596	36.596
PC2	9.770	23.828	60.424
PC3	4.057	9.894	70.319
PC4	3.215	7.841	78.160
PC5	2.061	5.027	83.188
PC6	1.842	4.492	87.679
PC7	1.041	2.539	90.218
PC8	0.912	2.224	92.442